UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1963 N° 25

RECHERCHES PHARMACOLOGIQUES SUR LE CARQUÉJOL ET SES DÉRIVÉS

THÈSE

Pour le Doctorat en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en juin 1963

par

Jean CROS

Pharmacien
Assistant de Pharmacie Chimique et de Pharmacodynamie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

Membres du Jury	MM. F. CAUJOLLE	*Président*
	STANISLAS	*Assesseurs*
	D. CAUJOLLE	
	MONTASTRUC	
	PITET	*Suppléant*

LES IMPRESSIONS OFFTYP
11, rue St-Papoul - Toulouse

RECHERCHES PHARMACOLOGIQUES sur le CARQUÉJOL ET SES DÉRIVÉS

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546522_0019

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1963 N° 25

RECHERCHES PHARMACOLOGIQUES SUR LE CARQUÉJOL ET SES DÉRIVÉS

THÈSE

Pour le Doctorat en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en juin 1963

par

Jean CROS

Pharmacien
Assistant de Pharmacie Chimique et de Pharmacodynamie
à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Toulouse

Membres du Jury

MM. F. CAUJOLLE	*Président*
STANISLAS, D. CAUJOLLE	*Assesseurs*
MONTASTRUC	
PITET	*Suppléant*

LES IMPRESSIONS OFFTYP
11, rue St-Papoul - Toulouse

UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

UNIVERSITE DE TOULOUSE

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

TABLEAU DU PERSONNEL

DOYEN. . . . . M. LAZORTHES
1er ASSESSEUR . . . . . M. BLANC
2e ASSESSEUR . . . . . M. SOREL
Doyens Honoraires. . . . . MM. GORSE, CALVET, LEFEBVRE, BRUSTIER
Professeurs honoraires. . . . MM. VALLOIS

Professeurs honoraires (suite) MM. RIBAUT, NANTA, TAPIE, DELAS, RISER

SECTION MEDECINE

PROFESSEURS

Clinique Médicale. . . . . MM. MERIEL
Clinique Médicale. . . . . GADRAT
Clinique chirurgicale et gynécologique. . . . . FABRE (P.)
Clinique chirurgicale et du Cancer. . . . . GRIMOUD
Clinique chirurgicale infantile et Orthopédie. . . . . VIRENQUE
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques. . . . BAZEX
Clinique des maladies de la Tuberculose et Pathologie interne. . . . . MOREL
Clinique des maladies des voies urinaires. . . . . LHEZ
Clinique médicale infantile et Puériculture. . . . . SOREL
Clinique médicale de 1re enfance . . . . . BARDIER
Clinique de Neurologie et Psychiatrie. . . . . GERAUD
Clinique obstétricale. . . . . GUILHEM (P.)
Clinique odonto-stomatologique. . . . . CADENAT (H.)
Clinique ophtalmologique. . CALMETTES
Clinique O.R.L. et de chirurgie maxillo-faciale. . . . . CALVET
Clinique traumatologique des membres. . . . . RIEUNAU

Accouchement et obstétrique sociale . . . . . MM. PONTONNIER
Clinique rhumatologique . . RUFFIE (R.)
Anatomie. . . . . LAZORTHES
Anatomie appliquée. . . . . POULHES
Anatomie pathologique. . . . FABRE (J.)
Bactériologie, Hygiène et Médecine sociale. . . . . ANDRIEU
Chimie biologique. . . . . VALDIGUIE
Electro-Radiologie. . . . . MARQUES
Embryologie générale . . . . . BROUSSY
Histologie. . . . . BIMES
Hydrologie thérapeutique et climatologie. . . . . DARNAUD
Médecine Légale et du Travail. . . . . PLANQUES
Médecine Sociale. . . . . BOUNHOURE
Parasitologie. . . . . BOUISSET
Pathologie chirurgicale. . . . DAMBRIN
Pathologie générale et Médecine expérimentale. . . . SENDRAIL
Physico-Chimie. . . . . AUVERGNAT
Physiologie. . . . . LAPORTE (Y.)
Physiologie appliquée et Pharmacologie. . . . . BAISSET
Physique biologique et médicale. . . . . BUGNARD
Propédeutique médicale. . . . LAPORTE (J.)
Thérapeutique. . . . . DARDENNE

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL ET PROFESSEURS SANS CHAIRE

Anatomie générale et comparée. . . . . MM. COULOUMA
Histologie et embryologie . . PLANEL
Ophtalmologie. . . . . DEODATI

Bactériologie. . . . . Mme ENJALBERT
Physique médicale. . . . . M. BRU
Biochimie médicale . . . . . DOUSTE-BLAZY
Parasitologie. . . . . RUFFIE (J.)
Physiologie. . . . . MONTASTRUC

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Anatomie . . . . . MM. BASTIDE
Anatomie Pathologique. . . BOUISSOU
Anesthésiologie . . . . . LARENG
Carcinologie . . . . . ESTRADE
Chirurgie générale . . . . . GEDEON
Electro-radiologie . . . . . PONS

Médecine générale . . . . . MM. MONNIER
Oto-Rhino-Laryngologie. . . . CLAUX
Pathologie expérimentale . . GLEIZES
Physiologie . . . . . BESSOU
Physique médicale . . . . . COMMANAY

AGREGES

Médecine générale . . . . . MM. RIBAUT, CALAZEL, RASCOL
Chirurgie générale . . . . . ENJALBERT, FICAT, PASQUIE, SOUQUET

Chirurgie générale (suite) . MM. SARRAZIN
Dermatologie et syphiligraphie . . . . . DUPRE
Hydrologie . . . . . DENARD
Médecine légale . . . . . GREZES-RUEFF
Obstétrique . . . . . ESPAGNO
Pneumo-phtisiologie . . . . . DELAUDE

AGRÉGÉS LIBRES

Anatomie. . . . . MM. THOMAS
Pathologie chirurgicale . . . . DIEULAFE

SECTION PHARMACIE

PROFESSEURS

Botanique et Cryptogamie . Mme DULUCQ-MATHOU
Chimie analytique, Toxicologie et Hygiène industrielle MM. BOURBON
Chimie pharmaceutique. . . . BLANC

Matière Médicale. . . . . MM. VINCENT
Pharmacie chimique et pharmaco-dynamie . . . . . CAUJOLLE
Pharmacie galénique. . . . . STANISLAS
Zoologie . . . . . ROUX

PROFESSEURS A TITRE PERSONNEL ET PROFESSEURS SANS CHAIRE

Sciences Naturelles. . . . . Mme CAUJOLLE
Pharmacie. . . . . M. COUTURIER

Microbiologie . . . . . M. BREUILLAUD
Sciences Physiques. . . . . M. PITET

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Toxicologie . . . . . BROUSSY (G.)

PERSONNEL ADMINISTRATIF

Secrétaire Principal. . . . . M. ROCHE
Secrétaire . . . . . M. BERRUT

La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats
(Délibération en date du 12 mai 1891)

A MES GRANDS-MERES

A MES PARENTS

Témoignage de mon affection et de ma reconnaissance.

A MES BEAUX-PARENTS

A MON FRERE

A MES BEAUX-FRERES ET BELLES-SŒURS

A MES ONCLES ET TANTES

A TOUS LES MIENS

A MA FEMME

Auprès de qui j'ai trouvé les encouragements et les conseils éclairés qui m'ont guidé sans cesse dans ce travail, en témoignage de mon amour.

A MA FILLE MARIE-CHRISTINE

A NOTRE MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR F. CAUJOLLE

Professeur de Pharmacie Chimique et de Pharmacodynamie

Membre correspondant de l'Académie de Médecine

Directeur du Centre de Recherches sur les Toxicités

Officier de la Légion d'honneur

Qu'il nous permette de lui exprimer notre reconnaissance pour le grand honneur qu'il nous fait en acceptant de présider notre Jury de Thèse.

Nous le remercions de nous avoir accueilli dans son laboratoire dès le début de nos études, d'avoir voulu très vite, faire de nous un de ses proches collaborateurs et d'avoir pris une part si active et si efficace dans l'élaboration de ce travail.

Nous n'oublierons jamais la confiance qu'il a bien voulu nous accorder. Puissent notre travail et nos efforts lui apporter le témoignage de notre immense gratitude et de notre respectueux attachement.

A notre Jury de Thèse :

MONSIEUR LE PROFESSEUR E. STANISLAS

Professeur de Pharmacie Galénique

Nous tenons à lui exprimer notre reconnaissance pour l'intérêt bienveillant qu'il nous a toujours témoigné et pour l'honneur qu'il nous fait en acceptant de siéger à notre Jury de Thèse.

MADAME LE PROFESSEUR D. CAUJOLLE

Chargée du cours de Pharmacodynamie

Nous la prions d'accepter l'expression de notre respectueuse reconnaissance pour avoir su nous faire entrevoir le monde infini et combien attachant de la pharmacodynamie. Nous lui devons la réalisation de ce modeste travail pour lequel elle a été notre guide.

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. MONTASTRUC

Professeur s/c de Physiologie

En témoignage de déférente gratitude pour le grand honneur qu'il nous fait de participer à notre Jury de Thèse.

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. PITET

Professeur s/c de Sciences physiques

Nous lui exprimons notre gratitude d'élève et nos remerciements pour avoir bien voulu participer à notre Jury de Thèse.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR R. DOMENJOZ

Professeur de Pharmacologie
Directeur de l'Institut de Pharmacologie
de l'Université de Bonn

Nous lui exprimons notre profond sentiment d'admiration pour sa haute culture scientifique.

Nous conserverons le meilleur souvenir du séjour passé dans son Institut où nous avons trouvé, tant auprès de lui-même qu'auprès de ses collaborateurs, un concours bienveillant et une amicale compréhension.

Nous tenons à lui exprimer notre profonde et respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR H. FRIEBEL

Professeur de Pharmacologie
Directeur des Services de Recherches Médicales
des Etablissements MERCK (Darmstadt)

Pendant notre séjour à l'Institut de Pharmacologie de l'Université de Bonn, il n'a cessé de nous prodiguer ses conseils les plus éclairés. Il nous a été agréable de travailler en étroite collaboration avec un Maître qui nous a appris à être toujours exigeant envers soi-même.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre vive et déférente gratitude.

A NOS MAITRES

DE LA FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

DE TOULOUSE

A MONSIEUR LE PROFESSEUR H. BOUISSOU

Maitre de Conférences agrégé

Nous tenons à le remercier pour l'aide précieuse qu'il nous a apportée.

Qu'il trouve ici l'expression de notre profonde et respectueuse gratitude.

A MONSIEUR P. GAYREL

Licencié ès Sciences
Docteur en Pharmacie
Chef de Travaux de Pharmacie

Nous le remercions pour tout ce que nous avons appris auprès de lui et pour la bonté bienveillante qu'il nous a toujours témoignée.

A MON MAÎTRE DE STAGE :

MONSIEUR P. BROS

Nous l'assurons de notre respectueuse reconnaissance.

A MONSIEUR J. LABRADOR

Docteur en Pharmacie

A MADAME J. LABRADOR

Licenciée en Droit

En témoignage de notre longue et profonde amitié.

Que Monsieur le Docteur Vétérinaire G. Faure trouve ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

Nous remercions Monsieur Y. R. Naves, Directeur des Services Scientifiques des Etablissements GIVAUDAN à Genève ; nous tenons à lui témoigner notre reconnaissance pour les nombreux échantillons de produits dont il nous a permis de bénéficier.

A tous nos camarades du Service de Pharmacie de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Toulouse et du Centre de Recherches sur les Toxicités, et en particulier à Mademoiselle Moulas, Mathématicienne-Statisticienne au Centre des Toxicités, Madame J. Durou, Stagiaire de Recherches au C.N.R.S., Monsieur J. Matha, Moniteur de Pharmacodynamie, Mademoiselle M. J. Caucat, Aide Technique à l'I.N.H. et Mademoiselle F. Maurel, Aide Technique au C.N.R.S., nous adressons l'expression de toute notre reconnaissance pour l'aide dévouée qu'ils nous ont apportée.

Nous tenons à remercier vivement Monsieur P. Varagne pour l'illustration graphique de notre Thèse ; que Mademoiselle D. Becchio soit assurée de notre sympathie pour l'exécution soigneuse de notre travail.

Nous adressons notre souvenir le plus cordial à Monsieur et Madame J. Oustrin, Chefs de Service au Centre des Toxicités, Monsieur et Madame R. Gout, Assistants de Pharmacie et Monsieur F. Kuhn, Docteur de l'Université de Bonn.

PLAN

PREMIERE PARTIE

ÉTUDE CHIMIQUE

1° ORIGINE BOTANIQUE.

2° PREPARATION ET PROPRIETES DU CARQUEJOL ET DE SES DERIVES.

DEUXIEME PARTIE

ÉTUDE DE LA TOXICITÉ

A) Techniques d'Études

B) Essais

I. — TOXICITE DU CARQUEJOL.

II. — TOXICITE DE L'ACETATE DE CARQUEJYLE.

III. — TOXICITE DES DIHYDROCARQUEJOLS.

IV. — TOXICITE DU PHENOCARQUEJOL.

C) Discussion

D) Conclusions

TROISIEME PARTIE

ÉTUDE PHARMACODYNAMIQUE

EFFETS SUR LE SYSTÈME NERVEUX CENTRAL

A) Pouvoir Hypnotique

I. — EFFET HYPNOTIQUE DU CARQUEJOL ET DE SES DERIVES.

II. — EFFETS RENFORÇATEURS DES HYPNOTIQUES.

B) Pouvoir Analgésique Central

I. — METHODES UTILISEES :

1° Tests douloureux.
2° Présentation des résultats.
3° Analgésiques de référence utilisés.

II. — EFFETS OBSERVES :

1° Au moyen d'épreuves mécaniques.
2° Au moyen d'épreuves thermiques.
3° Au moyen d'épreuves électriques.
4° Discussion et conclusion.

III. — POTENTIALISATION DU POUVOIR ANALGESIQUE CENTRAL DE LA CODEINE :

1° Epreuve mécanique.
2° Epreuve thermique.
3° Epreuve électrique.
4° Discussion et conclusion.

C) Influence sur la Thermorégulation

I. — ETUDE DU POUVOIR HYPOTHERMISANT SUR LA SOURIS BLANCHE.

II. — EFFETS SUR L'HYPERTHERMIE PROVOQUEE CHEZ LE LAPIN.

III. — CONCLUSIONS.

D) Pouvoir Anticonvulsivant

CONVULSIONS APRÈS ADMINISTRATION DE :

1° PENTÉTRAZOL.

2° STRYCHNINE.

E) Effets sur le comportement d'animaux agressifs

CONCLUSIONS GENERALES

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE CHIMIQUE

PREMIERE PARTIE

ETUDE CHIMIQUE

1° ORIGINE BOTANIQUE

Les Baccharidinées sont des Composées exotiques, de la tribu des Astérées.

Les Composées appartiennent au grand phyllum des Synanthérales : cette immense famille cosmopolite d'un millier de genres — et de 20 000 espèces — est subdivisée en Tubuliflores et Liguliflores.

Les Baccharidinées se classent parmi les Tubuliflores Astérées. Le genre *Baccharis L.* comprend 300 à 400 espèces, d'Amérique tropicale.

D'après Y.R. Naves [54], l'huile essentielle de carquéja, produite dans les Etats de Santa Catarina et de Rio Grande do Sul, au Brésil, est surtout obtenue à partir de *Baccharis genistelloïdes* Pers., espèce abondante dans la Prairie, et désignée sous le nom de carquéja, quina de condamine ou vassoura.

Les essences brésiliennes de *Baccharis genistelloïdes* sont des liquides ambrés, « à odeur forte rosée, développant un relent d'artichaut cuit » (Y.R. Naves), possédant la composition moyenne suivante [53, 54, 56] :

— 15 % de (—) nopinène,

— 6 à 7 % de carquéjol,

— 55 % d'acétate de carquéjyle,

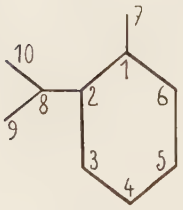
— 10 à 12 % de sesquiterpènes bi et tricycliques,

— 6 à 8 % de lédol.

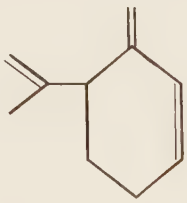
2° PREPARATION ET PROPRIETES DU CARQUEJOL ET DE SES DERIVES

Le carquéjol peut être extrait directement de l'essence par distillation fractionnée ou être obtenu par saponification de son ester acétique, toujours abondant dans les essences de carquéja.

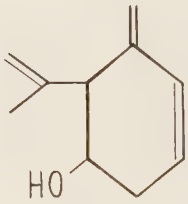
Y.R. Naves a eu le mérite de reconnaître la structure du carquéjol, qu'il a identifié à l'orthomenthatriène 1(7)5.8 o13 ; par un travail de chimie structurale très remarquable [53, 54], Y.R. Naves a ainsi découvert le premier dérivé de structure orthomenthanique présent dans une essence végétale.



o. menthane



o. menthatriène
1 (7) 5 8



carquéjol

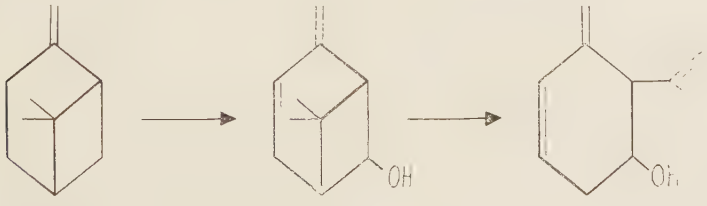
Le carquéjol possède 2 atomes de carbone asymétriques (2 et 3) et un plan cyclohexénique ; la théorie permet donc de prévoir plusieurs isomères. Ces isomères sont très difficiles à obtenir purs et, à notre connaissance, les isomères optiques (d, g, r) du carquéjol, des essences de *Baccharis genistelloïdes*. n'ont pas encore été séparés à l'état pur.

Les caractéristiques physiques du carquéjol sont les suivantes :

Constantes	Carquéjol libre de l'essence	Carquéjol par saponification		Carquéjol très purifié
		Reflux 30 min.	reflux 2 h	
$E_{0,5}$	50°-51°	50°-51°	50°-51°	50°-51°
F	32°-33°	29°-30°	32°-33°	37°-38°
d^{20}_4	0,9730	0,9689	0,9701	0,9701
α^{20}_D	+274°,2	+300°,1	+256°,2	+328°
(CH_3OH. c = 10)				

L'abaissement de +328° à +256°2 du pouvoir rotatoire est lié à la racémisation partielle produite au cours d'un long reflux.

Malgré sa structure orthomenthanique très insolite, il semble bien que le carquéja n'échappe pas pour autant à la règle d'enchaînement isoprénique de Ruzicka, si l'on veut bien avec Y.R. Naves [57], envisager comme très plausible la filiation biologique du nopinène et du carquéjol.



nopinène — pinadiène-2 (10) 3 ol-7 — carquéjol

Les parentés structurales du carquéjol avec celles de ses dérivés immédiats, sont schématisées par le tableau I [15, 54].

Les caractères organoleptiques du carquéjol sont assez particuliers. Ils sont peu marqués dans l'essence de carquéja. mais Y.R. Naves a reconnu les effets irritants sur les muqueuses, de l'alcool qu'il venait de découvrir.

Ces caractères organoleptiques peuvent se décrire ainsi [15] :

« L'odeur du carquéjol est terpénique, et ne rappelle pas celle des menthols. Inhalées en masse, ses vapeurs sont irritantes pour les muqueuses oculaires et rhino-pharyngées, elles provoquent à la longue le larmoiement et une certaine gêne respiratoire. Ces accidents sont bénins, rétrocèdent spontanément, ne laissent aucune séquelle apparente, ni aucune sensibilisation ; certains sujets sont résistants et n'éprouvent ni réaction, ni malaise. »

L'acétate de carquéjyle répondant au critère ci-après : $[\alpha]^{20}_{D} = +275°4$, donne après saturation un mélange de stéréo-isomères de $[\alpha]^{20}_{D}$ compris entre $+26°9$ et $+34°3$ (Y.R. Naves).

Les fractions les mieux définies par Y.R. Naves ont les caractères suivants :

$E_{0,5} = 82\text{-}84°$; $D^{20}_{4} = 0{,}9942$; $N^{20}_{C} = 1{,}48482$; $N^{20}_{D} = 1{,}48842$; $N^{20}_{F} = 1{,}49716$.

Par réduction Bouveault et Blanc de l'acétate de carquéjyle, Y.R. Naves a obtenu un mélange d'hydrocarbures et de dihydrocarquéjols.

La fraction principale de (—) dihydrocarquéjol avait pour caractères :

$E_{3} = 67\text{-}68°$; $D^{20}_{4} = 0{,}9586$; $N^{20}_{C} = 1{,}49626$; $N^{20}_{D} = 1{,}49980$; $N^{20}_{F} = 1{,}50839$; $[\alpha]^{20}_{D} = -238°$.

Par thermolyse du carquéjol, Y.R. Naves a obtenu une fraction phénolique homogène, identifiée comme étant de l'isopropényl-2méthyl-3phénol (ou phénocarquéjol). Ses caractères sont les suivants :

$E_{2} = 58\text{-}59°$; $D^{20}_{4} = 0{,}9981$; $N^{20}_{C} = 1{,}53138$; $N^{20}_{D} = 1{,}53782$; $N^{20}_{F} = 1{,}55101$; $[\alpha]^{20}_{D} = -238°$.

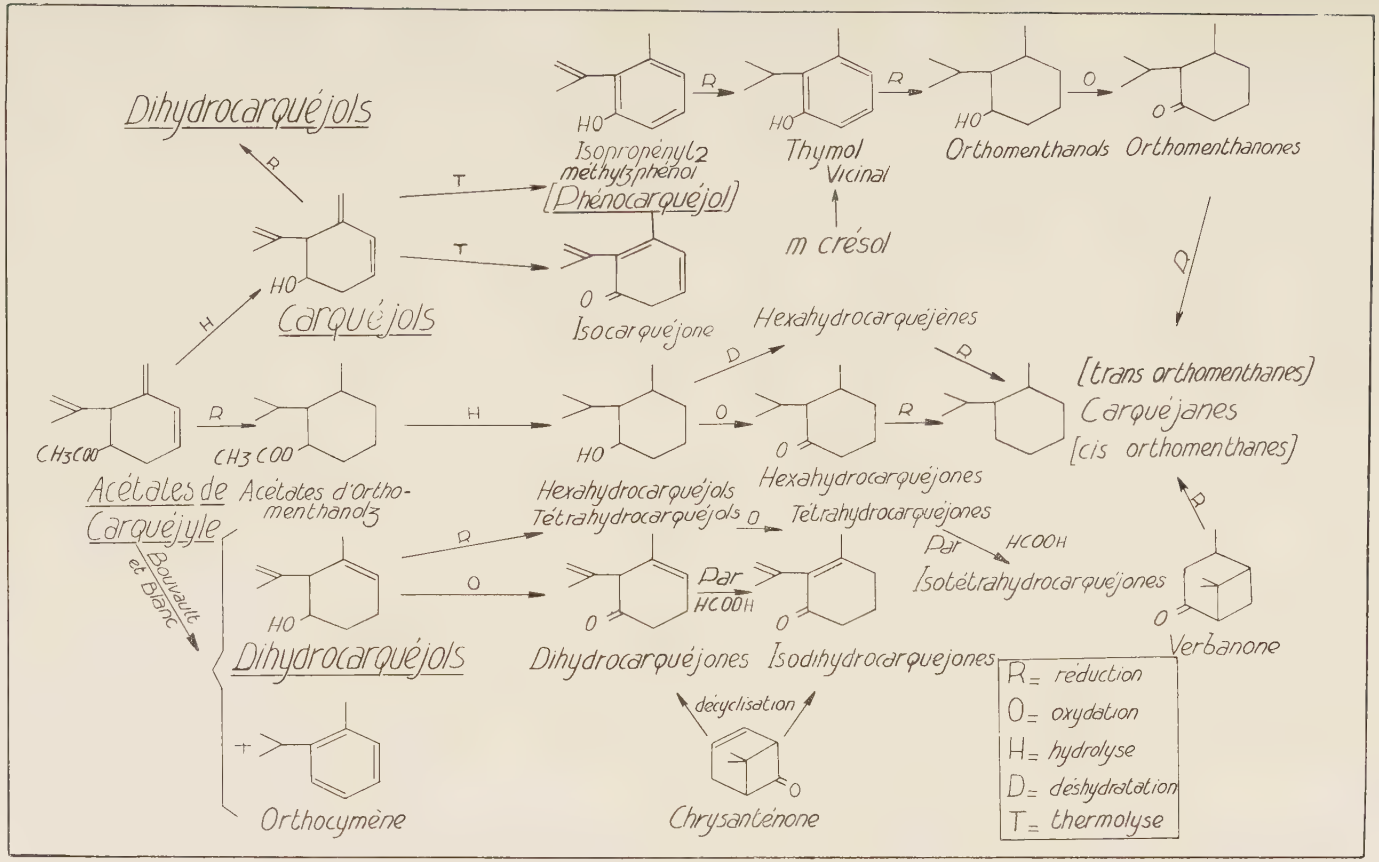

Dihydrocarquéjols
Isopropényl-2 méthyl-3 phénol
Thymol
Vicinal
Orthomenthanols
Orthomenthanones
[Phénocarquéjol]
m crésol
Carquéjols
Isocarquéjone
Hexahydrocarquéjènes
[trans orthomenthanes]
Carquéjanes
[cis orthomenthanes]
Acétates de Carquéjyle
Acétates d'Ortho-menthanol-3
Hexahydrocarquéjols
Hexahydrocarquéjones
Tétrahydrocarquéjols
Tétrahydrocarquéjones
Par HCOOH
Isotétrahydrocarquéjones
Bouvault et Blanc
Dihydrocarquéjols
Dihydrocarquéjones
Isodihydrocarquejones
Verbanone
décyclisation
Chrysanténone
Orthocymène
R = réduction
O = oxydation
H = hydrolyse
D = déshydratation
T = thermolyse

Tableau I

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE DE LA TOXICITÉ

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DE LA TOXICITE

A) Techniques d'Études

I. — CHOIX DES ANIMAUX — SOLVANT — VOIES D'ADMINISTRATION.

II. — INTERPRETATION DES RESULTATS: Détermination de la DL 50.

III. — EXAMENS ANATOMOPATHOLOGIQUES.

IV. — INFLUENCE SUR LA REPRODUCTION CHEZ LE RAT.

B) Essais

I. — TOXICITE DU CARQUEJOL:

1° A l'égard de la Souris.
2° A l'égard du Rat.

II. — TOXICITE DE L'ACETATE DE CARQUEJYLE:

1° A l'égard de la Souris.
2° A l'égard du Rat.

III. — TOXICITE DES DIHYDROCARQUEJOLS:

1° A l'égard de la Souris.
2° A l'égard du Rat.

IV. — TOXICITE DU PHENOCARQUEJOL:

1° A l'égard de la Souris.
2° A l'égard du Rat.

C) Discussion

D) Conclusions

A) Techniques d'Études

I. — CHOIX DES ANIMAUX — SOLVANT VOIES D'ADMINISTRATION

Les déterminations de toxicité, préambule indispensable à toute étude pharmacologique, ont été réalisées à l'égard du Chien par F. Caujolle et ses collaborateurs [15]. Ces déterminations ont été completées à l'égard de la Souris et du Rat [13, 15, 16, 17, 18].

Lors des essais préliminaires, nous avons obtenu quelques résultats aberrants avec des animaux provenant de différentes origines. Tous les résultats que nous présentons ici, ont été obtenus avec des sujets provenant essentiellement de la même souche.

Nos essais — toxicologiques et pharmacologiques — ont porté sur des animaux adultes, de même âge, sensiblement de même poids et des deux sexes en proportions égales.

— Les Rats blancs (*Rattus norvégicus* var. albinos souche Wistar A.G.) sont utilisés 9 à 10 semaines après leur sevrage. Leur poids est alors environ de 200 ± 30 g.

— Les Souris blanches (*Mus musculus* var. albinos souche Swiss) 2 semaines après sevrage pèsent 22 ± 3 g.

La nourriture de ces animaux est constituée d'aliments composés complets biscuités, de légumes verts (salades,

carottes) ajoutés de temps à autre à leur ration alimentaire, et d'eau de boisson à volonté (les cages étant approvisionnées quotidiennement en eau potable).

Les locaux d'expérimentation restent à une température ambiante de 21 ± 1° C.

L'insolubilité dans l'eau des substances envisagées ne nous permettant pas de les diluer dans les sérums physiologiques, nous avons donc été amenés à les dissoudre dans de l'huile d'olive neutralisée. La neutralisation de l'huile d'olive commerciale se fait suivant la technique que propose le Codex [62].

La toxicité du carquéjol et de ses dérivés a été déterminée après administration des produits selon deux voies d'introduction : d'une part, la voie orale avec une sonde œsophagienne, et, d'autre part, la voie intrapéritonéale, qui sera celle employée pour l'étude pharmacologique.

L'insolubilité dans les solvants aqueux des substances, interdit de faire une étude développée de la toxicité par la voie intraveineuse. Toutefois, des résultats très valables ont été présentés sur la toxicité du carquéjol à l'égard du Chien [15].

Nous nous sommes astreint, dans la mesure du possible, à utiliser des solutions de même concentration, en raison des résultats très différents obtenus avec des concentrations variables : de nombreux essais préliminaires — effectués sur Souris et sur Rats — nous ont permis de constater que, pour obtenir des résultats homogènes et comparables, il est nécessaire d'employer des concentrations rigoureusement identiques lorsque la solution huileuse est administrée par voie entérale. Des concentrations différentes — de 10 à 30 % de produit dans l'huile d'olive neutralisée — n'influencent pas la toxicité par voie intrapéritonéale ; mais, administrer un produit toujours à la même concentration pose le délicat pro-

blème de la quantité de solution à ingérer, surtout — comme ce sera le cas pour le carquéjol et ses dérivés — lorsque la gamme des doses est très étalée et lorsque les sujets à expérimenter sont d'espèces différentes, de poids et de taille inégaux.

Les quantités de solution que nous avons administrées *per os*, n'ont jamais dépassé 0,5 ml pour la Souris et 3 ml pour le Rat. La gamme des doses toxiques étant plus resserrée par la voie intrapéritonéale, les quantités de solution injectée varient de 0,2 ml à 1,5 ml. La vitesse d'injection est environ de 1 ml / 30 secondes, la température de la solution variant de 20 à 22° C. Dans le cas de l'administration par voie entérale, nous avons toujours utilisé des animaux à jeûn depuis la veille de l'expérimentation.

La toxicité aiguë — administration d'une dose unique de produit — a été étudiée sur la Souris et le Rat. L'observation des animaux survivants s'est poursuivie 30 jours après l'administration du produit. La toxicité subaiguë — chronique à moyen terme — ainsi que l'étude tératologique n'ont été faites que sur le Rat.

Parallèlement à ces essais et dans les mêmes conditions expérimentales, nous avons administré à un lot d'animaux témoins, l'huile d'olive neutralisée qui sert de véhicule aux substances étudiées.

II. — INTERPRETATION DES RESULTATS

a) Détermination de la DL 50 :

Parmi les nombreuses méthodes de détermination de la dose léthale 50 % (DL 50), nous en avons retenues quatre qui nous permettront, d'une part, de comparer les différents résultats obtenus, et, d'autre part, de faire une critique de chacune d'entre elles [1, 11, 24, 80].

Les méthodes que nous avons utilisées sont :

— les constructions graphiques de la courbe de Trevan et de la droite de régression ;

— la méthode de Sollman ;
— la méthode de Behrens et Kærber ;
— la méthode de Litchfield et Wilcoxon.

b) Construction des courbes de mortalité :

La courbe sigmoïde de Trevan [76] est construite en portant, en abscisses, les doses exprimées en g kg de poids corporel et, en ordonnées, les pourcentages de mortalité.

La droite de régression est tracée de la même manière mais en utilisant en abscisses une échelle logarithmique.

c) Méthode de Sollman (1920) [72] :

Cette méthode très simple propose de calculer la DL 50 en faisant la demi-somme de la dose maxima jamais mortelle et de la dose minima toujours mortelle :

$$DL\ 50 = \frac{DMJM + DmTM}{2}$$

DMJM : dose maxima jamais mortelle ;
DmTM : dose minima toujours mortelle.

d) Méthode de Behrens et Kærber (1935) [4] :

Behrens et Kærber proposent d'utiliser la formule ci-dessous :

$$DL\ 50 = DmTM - \frac{\Sigma\ a \times b}{n}$$

DmTM : dose minima toujours mortelle ;
a : moyenne de la somme des morts à deux doses successives ;
b : différence entre deux doses successives ;
n : nombre d'animaux par groupe.

Regnier et collaborateurs [65] indiquent de prendre la moyenne des effectifs par groupe lorsque les essais n'ont pu bénéficier d'un même nombre d'animaux pour chaque dose.

e) Méthode de Litchfield et Wilcoxon (1949) [49] :

Cette méthode graphique, rapide, de l'approximation de la DL 50, basée sur le calcul des probits — d'après Bliss [8] et Gaddum [31, 32] — a l'avantage de nous permettre de déterminer les limites de confiance des deux paramètres dose-effet %, pour une probabilité de 95 %.

Pour chaque essai, nous nous sommes attachés à définir non seulement la dose maxima jamais mortelle (DMJM), la dose minima toujours mortelle (DmTM), la dose léthale 50 % (DL 50) en 24 h, mais aussi la dose infraléthale, le temps de crise et l'indice d'agressivité [12] :

— la dose infraléthale, c'est-à-dire, la plus grande dose jamais mortelle, indépendante de la durée d'observation ;

— le temps de crise, après lequel aucune mortalité n'est enregistrée ;

— l'indice d'agressivité ou DL 50 limite est la DL 50 déterminée avec le temps de crise.

Remarque. — Lorsque le dérivé orthomenthanique est administré par voie entérale chez le Rat, il nous a été impossible, dans certains cas, de déterminer avec rigueur, la dose minima toujours mortelle en 24 heures ; en effet, en raison de la faible toxicité des substances essayées, nous ne pouvions pas administrer des doses toxiques élevées car nous étions tenus de respecter, d'une part, la concentration du produit, et, d'autre part, la quantité de solution à ingérer ($\leqslant$3 ml par animal).

Cette remarque amène deux conséquences :

1° la mise en défaut de la détermination de la DL 50 par les méthodes de Sollman et de Behrens et

Kærber, dont l'emploi nécessite la connaissance de la dose minima toujours mortelle ;

2° la valeur discutable sinon illusoire de la DL 50 à échéance de 24 heures.

Notre discussion et nos conclusions porteront donc uniquement sur la DL 50 déterminée par la méthode de Litchfield et Wilcoxon, cette DL 50 étant l'indice d'agressivité (DL 50 limite), telle que l'ont définie Caujolle et Meynier.

III. — EXAMENS ANATOMOPATHOLOGIQUES

Les contrôles anatomopathologiques ont été limités à une seule espèce animale : le Rat.

Administration d'une dose unique :

Ayant préalablement déterminé la toxicité aiguë du carquéjol et de ses dérivés, nous avons administré à des lots de 5 Rats, des doses très voisines de la 100 % mortelle, de la 50 % mortelle, de la 10 % mortelle, par les deux voies d'introduction : voie entérale et voie intrapéritonéale. Ceci nous a permis :

— de contrôler les résultats préalablement obtenus,

— d'effectuer les prélèvements anatomopathologiques dans des conditions de référence très précises.

Parmi les animaux qui ont survécu à l'injection des produits, une partie est sacrifiée 4 jours après l'expérimentation, l'autre partie, 8 jours après. Sitôt après la mort, on effectue les prélèvements d'organes.

Administration de doses réitérées :

Pendant une durée d'un mois, nous avons administré (six jours par semaine) :

— par la voie intrapéritonéale, la dose que nous

emploierons pour les essais pharmacologiques (environ le 1/10e de la DL 50) ;

— par la voie orale, une dose 4 fois supérieure à la précédente.

Afin de dépister le moment de l'apparition de lésions éventuelles, chaque semaine consécutive aux administrations, un lot de Rats était sacrifié et soumis à l'examen anatomopathologique.

Nous avons effectué tout d'abord un examen macroscopique des viscères après autopsie des animaux, puis un prélèvement des principaux organes. Les prélèvements ont été effectués dans les quelques minutes qui suivirent la mort de l'animal, exception faite pour les animaux ayant succombé dans le courant de la nuit. L'étude anatomopathologique a porté systématiquement sur les organes suivants : foie, rate et reins, pancréas, poumons, myocarde, organes génitaux. En outre, suivant le mode d'administration du produit — voie orale ou intrapéritonéale — nous prélevions l'estomac ou une partie des intestins.

Après fixation dans la solution de Dubosq-Brasil et inclusion dans la paraffine, les coupes sont débitées au microtome et colorées suivant la méthode de Masson à l'Hémalun-éosine.

IV. — INFLUENCE SUR LA REPRODUCTION CHEZ LE RAT

Il y a toujours intérêt à suspecter l'activité tératogène d'une substance nouvelle sur plusieurs espèces animales [19, 33, 73].

Nous nous abstiendrons d'énoncer des conclusions générales sur l'inocuité ou l'agressivité des produits à essayer — du point de vue tératologique — car nous avons limité notre expérimentation à une seule espèce : le Rat.

Nous avons mené parallèlement l'étude de la toxicité à long terme et la recherche d'une éventuelle activité tératogène. Quotidiennement et pendant 4 semaines, nous administrons par les voies orale et intrapéritonéale le carquéjol ou l'un de ses dérivés, à des Rats mâles et femelles. Chaque semaine nous accouplons un certain nombre d'animaux et poursuivons l'expérimentation sur les autres.

L'accouplement se fait d'après les modalités suivantes : 1 ♂ + 2 ♀ dans chaque cage :

— cage n° 1 : 1 ♂ traité + 2 ♀ traitées
— cage n° 2 : 1 ♂ non traité + 2 ♀ traitées
— cage n° 3 : 1 ♂ traité + 2 ♀ non traitées
— cage n° 4 : 1 ♂ non traité + 2 ♀ non traitées (témoins)

Dans chaque combinaison, nous constituons 4 groupes, c'est-à-dire, 4 ♂ + 8 ♀. Nous divisons ces groupes en 2 lots égaux : dans le premier, les animaux, dès l'accouplement, ne reçoivent plus de produit ; dans le second, nous continuons l'administration pendant 5 jours (temps pendant lequel le Rat mâle est laissé réuni aux deux femelles).

Dix jours après l'accouplement, nous séparons toutes les femelles et suivons attentivement la gestation jusqu'à la parturition. Les petits, après la naissance, sont pesés régulièrement, leur croissance étant ainsi surveillée pendant plus d'un mois. Les Rats issus de parents non traités, servent de témoins.

L'expérimentation eût gagné à être conduite avec de plus grands effectifs d'animaux ; nos essais ont été limités par les trop petites quantités de substances dont nous disposions.

B) Essais

Les résultats que nous présentons ont été obtenus avec des séries de lots comprenant au moins 10 animaux par dose (5 mâles + 5 femelles). Pour les doses extrêmes (dose maxima jamais mortelle et dose minima toujours mortelle en 24 heures), 15 à 20 animaux furent utilisés. Dès l'administration du produit, les sujets étaient réunis au nombre maximum de 5 par cage, en vue de l'observation.

I. — TOXICITE DU CARQUEJOL

1° A l'égard de la Souris :

Les concentrations employées sont les suivantes :

— voie intrapéritonéale : 5 et 10 g % ml ;

— voie orale : 25 g % ml.

Les essais ont porté sur un ensemble de 250 sujets.

a) *Toxicité immédiate ou proximale :*

L'ensemble des résultats expérimentaux est réuni dans les tableaux 1, 2 et 3.

Tableau 1

TOXICITÉ DU CARQUÉJOL

(Souris : voie entérale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	2 j	30 j
0,50	0	0	0	0
0,60	0	10	10	10
0,70	0	10	10	10
1,00	20	30	30	30
2,00	60	80	80	80
3,00	70	70	80	80
4,00	90	90	100	100
5,00	90	100	100	100

Tableau 2

TOXICITÉ DU CARQUÉJOL

(Souris : voie intrapéritonéale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	2 j	30 j
0,30	0	0	0	0
0,34	10	30	30	30
0,38	10	20	20	20
0,46	30	60	60	60
0,50	50	50	60	60
0,54	90	90	100	100
0,60	70	90	100	100
0,70	100	100	100	100
0,80	100	100	100	100
1,00	100	100	100	100

α) *Doses toxiques* (échéance de 24 heures) :

Tableau 3

Les doses sont exprimées en g/kg		Voie entérale	Voie intrapéritonéale
D. M. J. M.		0,50	0,30
D. m. T. M.		5,00	0,70
DL 50	Courbe de TREVAN	1,77	0,48
	Droite de régression	1,58	0,45
	SOLLMAN	2,75	0,50
	BEHRENS et KÆRBER	1,87	0,46
	LITCHFIELD et WILCOXON	1,56 (1,11 — 2,19)	0,44 (0,39 — 0,49)

β) *Symptomatologie :*

Quelle que soit la dose administrée de carquéjol, les animaux présentent les mêmes symptômes : après une période de latence parfois assez prolongée (surtout après administration par voie entérale), l'activité motrice diminue ; les sujets traités marchent en titubant, et des effets narcotiques inconstants et éphémères s'observent.

Intoxication non mortelle. — Cet état narcotique, n'apparaissant que pour les fortes doses, se poursuit jusqu'à 10 heures après l'injection ; il s'accompagne d'une forte hypothermie : la chute moyenne de la température rectale dépasse 5° C ; cette hypothermie apparaît entre 30 et 75 minutes après l'injection, puis progressivement la température croît, mais ne reprend pas sa valeur initiale avant trois ou quatre heures. Suivant les doses et la voie d'administration, les sujets en narcose reprennent un habitus normal plus ou moins rapidement, puis récupèrent leur activité motrice antérieure.

Intoxication mortelle. — L'animal reste prostré, stupéfié, et succombe dans un état comateux, sans gémissements et sans manifester des signes apparents de souffrance. On n'observe pas de convulsions.

b) *Toxicité différée ou distale :*

Nous avons prolongé la durée d'observation jusqu'à 30 jours et calculé suivant les méthodes précitées, les variations de la DL 50 en fonction du temps d'observation.

Les doses infraléthales sont :

— pour la voie entérale : 0,50 g/kg ;
— pour la voie intrapéritonéale : 0,30 g/kg.

Le temps de crise se situe à 36 heures (voie intrapéritonéale) et à 2 jours (voie orale) après l'administration du produit, c'est-à-dire, qu'à partir de ce moment, le pourcentage de mortalité est définitivement fixé.

Ainsi, le carquéjol administré par voie intrapéritonéale ou entérale ne possède pratiquement pas de toxicité différée. Les DL 50 limites sont donc très peu différentes des DL 50 à échéance de 24 heures :

— voie entérale : 1,42 (1,02 - 1,95) g/kg ;
— voie intrapéritonéale : 0,44 (0,39 - 0.50) g/kg.

2° A l'égard du Rat :

a) *Administration d'une dose unique (intoxication aiguë) :*

Dans les tableaux 4, 5 et 6 figurent les résultats obtenus.

Tableau 4

Toxicité du carquéjol

(Rats : voie entérale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	3 j	30 j
0,60	0	0	0	0
0,80	10	20	20	20
0,90	0	20	20	20
1,00	10	20	20	20
1,60	10	40	40	40
2,50	70	70	90	90
4,00	60	80	100	100

Tableau 5

TOXICITÉ DU CARQUÉJOL

(Rats : voie intrapéritonéale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	2 j	30 j
0,15	0	0	0	0
0,20	0	0	20	20
0,25	0	0	20	20
0,30	20	40	40	40
0,35	0	30	70	70
0,40	50	80	80	80
0,45	60	90	90	90
0,50	40	60	60	60
0,55	60	80	80	80
0,60	20	80	100	100
0,65	80	100	100	100

Tableau 6

Les doses sont exprimées en g/kg		Voie entérale	Voie intrapéritonéale
D. M. J. M.		0,60	0,25
D. m. T. M.		>4,00	0,65
DL 50	Courbe de TREVAN	1,80	0,45
	Droite de régression	1,80	0,44
	SOLLMAN	—	0,45
	BEHRENS et KÆRBER	—	0,40
	LITCHFIELD et WILCOXON	1,85 (1,37 — 2,50)	0,38 (0,33 — 0,43)
Dose infraléthale		0,60	0,15
Temps de crise (jours)		3	2
DL 50 limite (LITCHFIELD et WILCOXON)		1,47 (1,14 — 1,90)	0,31 (0,28 — 0,34)

La symptomatologie, qui offre une grande homogénéité, est identique à celle observée chez la Souris [15] :

« Aux doses faibles, la phase transitoire d'abattement sans anesthésie, reste le seul signe apparent. Aux doses fortes, en général, une véritable narcose s'installe en deux à cinq minutes pour une durée de trente-cinq à cinquante minutes ; après le réveil l'animal reste somnolent, prostré pendant une période souvent prolongée au-delà de vingt-quatre heures : pendant la phase de sommeil, les réflexes sont abolis et le relâchement musculaire complet. La mort peut survenir rapidement, en tout cas, elle n'est jamais différée ; la phase agonique est accompagnée d'une émission abondante par les naseaux d'un écoulement hémorragique, le pelage est mouillé comme par une sudation abondante.

Quelle que soit la voie d'administration adoptée, on n'observe pas d'effets différés et les sujets qui ne succombent pas se rétablissent apparemment, de façon complète. Les Rats survivants reprennent rapidement une croissance pondérale normale ; tout se passe comme si l'intoxication par le carquéjol ne laissait au Rat, aucune séquelle. »

Examens anatomopathologiques. — Quelle que soit la dose administrée et la voie d'introduction, le carquéjol, chez le Rat, n'entraîne aucune lésion histologique décelable par nos méthodes.

b) *Administration de doses réitérées (intoxication à moyen terme) :*

L'injection aseptique quotidienne de 15 mg/kg de carquéjol par voie intrapéritonéale, pendant 4 semaines, n'engendre chez le Rat aucune mortalité. De même, après administration journalière d'une dose voisine du dixième de la DL 50 — 50 mg/kg (voie intrapéritonéale) et 200 mg/kg (voie entérale) — on n'observe aucune léthalité. L'administration prolongée de carquéjol n'est suivie d'aucun retard dans la croissance des animaux (la courbe de poids des animaux traités est voisine de celle des animaux témoins). Les examens histologiques exécutés à la fin de chaque semaine de traitement, montrent que le carquéjol administré par voie intrapéritonéale, ne provoque à faible dose (15 mg/kg) aucune lésion anatomopathologique perceptible.

Le carquéjol, par voie intrapéritonéale, à la dose de 50 mg/kg, est toléré sans signature lésionnelle, par la majorité des organes. On observe exceptionnellement quelques signes de souffrance au niveau des tubes rénaux (congestion des glomérules), mais ces signes sont trop discrets et trop peu d'animaux sont atteints, pour que l'on puisse incriminer en toute rigueur, le produit ; de toute façon, on note à l'autopsie une réaction congestive assez marquée du péritoine (réaction inflammatoire).

Administré à la même dose, par voie orale, le carquéjol est bien supporté mais, dans les estomacs prélevés, après 15 jours d'injection, on trouve une altération de la couche musculaire sous-séreuse (dégénérescence vacuolaire de certains faisceaux).

c) *Influence du carquéjol sur la reproduction* : (*étude effectuée sur le Rat*) :

Nous avons suivi exactement le plan de travail proposé à la page 38 ; les essais ont porté sur 80 à 100 sujets. Quelle que soit la dose administrée (15 mg/kg, 50 mg/kg, 200 mg/kg), par voie orale ou intrapéritonéale, le carquéjol n'exerce aucune action tératogène vis-à-vis du Rat blanc. Par le pourcentage de femelles en gestation, nous pouvons conclure que le carquéjol n'affecte nullement ls activités testiculaire et ovarienne des sujets expérimentés ; les Ratons ne présentent aucune malformation anatomique et histologique et en outre, ils accusent un poids et un développement sensiblement identiques à ceux des témoins (cf. tableau 7).

II. — TOXICITE DE L'ACETATE DE CARQUEJYLE

1° A l'égard de la Souris :

La concentration en acétate de carquéjyle est de 5 à 10 g % ml (voie intrapéritonéale) et de 25 g % ml (voie entérale) d'huile d'olive neutralisée.

La toxicité de l'acétate de carquéjyle est comparable à celle du carquéjol ; les sujets éprouvés sont toutefois moins choqués après administration du dérivé acétylé : le coma

Tableau 7

INFLUENCE DU CARQUÉJOL SUR LA REPRODUCTION DU RAT

	♂ : carquéjol — ♀ : 0				♂ : 0 — ♀ : carquéjol				♂ carquéjol — ♀ : carquéjol				Témoins ♂ : 0 — ♀ : 0	
	1re semaine	2e semaine	3e semaine	4e semaine	1re semaine	2e semaine	3e semaine	4e semaine	1re semaine	2e semaine	3e semaine	4e semaine	1re semaine	4e semaine
Femelles en gestation..	2 / 4	3 / 4	3 / 4	3 / 4	3 / 4	3 / 4	4 / 4	3 / 4	2 / 4	5 / 8	4 / 5	4 / 6	4 / 4	3 / 4
Nombre de Ratons ..	10+8	10+4 +9	10+8 +9	8+8 +10	10+6 +7	10+5 +11	9+8+ 10+9	9+8 +11	9+6 +11	11+8 +8+ 11+8	9+10 +7+5	5+6+ 6+4	10+9 +8+7	9+10 +9
Poids moyen des Ratons à la naissance	5,9 g	7,1 g	5,5 g	6,4 g	7,0 g	6,0 g	6,3 g	6,6 g	7,2 g	6,2 g	6,4 g	7,5 g	6,3 g	6,4 g
30 jours après	47,4 g	52,2 g	54,0 g	60,0 g	59,8 g	61,0 g	53,4 g	48,4 g	50,0 g	53,4 g	49,3 g	60,0 g	60,5 g	55,8 g

narcotique est beaucoup moins profond et la chute thermique est moins importante. La toxicité différée est nulle.

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux 8, 9 et 10.

Tableau 8

TOXICITÉ DE L'ACÉTATE DE CARQUÉJYLE

(Souris : voie entérale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	3 j	30 j
0,80	0	0	0	0
1,00	0	10	10	10
2,00	10	30	30	30
3,00	40	70	70	70
4,00	60	80	80	80
5,00	80	100	100	100

Tableau 9

TOXICITÉ DE L'ACÉTATE DE CARQUÉJYLE

(Souris : voie intrapéritonéale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	2 j	30 j
0,34	0	0	0	0
0,40	0	10	20	20
0,46	0	20	40	40
0,50	0	10	40	40
0,58	0	10	20	20
0,64	20	60	80	80
0,70	30	40	40	40
0,82	40	70	90	90
0,88	50	80	100	100
0,94	80	100	100	100
1,00	100	100	100	100

Tableau 10

Les doses sont exprimées en g/kg	Voie entérale	Voie intrapéritonéale
En 24 heures :		
D. M. J. M.	0,80	0,34
D. m. T. M.	5,00	0,94
DL 50 — Courbe de TREVAN	2,74	0,70
DL 50 — Droite de régression	2,15	0,64
DL 50 — SOLLMAN	2,60	0,64
DL 50 — BEHRENS et KÆRBER	2,64	0,69
DL 50 — LITCHFIELD et WILCOXON	2,30 (1,87 — 2,92)	0,70 (0,63 — 0,78)
Dose infraléthale	0,80	0,34
Temps de crise (jours)	1	1,5
DL 50 limite (LITCHFIELD et WILCOXON)	2,30 (1,87 — 2,92)	0,58 (0,54 — 0,63)

Les animaux survivant à l'administration d'acétate de carquéjyle récupèrent en 2 ou 3 jours, leur habitus normal et leur donnée pondérale.

2° A l'égard du Rat :

Les concentrations en acétate de carquéjyle dans l'huile d'olive neutralisée sont de :

— 5 et 10 g % ml pour la voie intrapéritonéale ;

— 25 g % ml pour la voie orale.

a) *Administration d'une dose unique :*

Les tableaux 11, 12 et 13 résument nos résultats expérimentaux.

Tableau 11

TOXICITÉ DE L'ACÉTATE DE CARQUÉJYLE

(Rats : voie entérale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	3 j	30 j
0,60	0	0	0	0
0,65	0	0	10	10
0,75	0	0	20	20
1,00	10	10	20	20
1,50	10	10	30	30
2,00	30	30	40	40
2,50	40	50	70	70
3,00	20	40	70	70

Tableau 12

TOXICITÉ DE L'ACÉTATE DE CARQUÉJYLE

(Rats : voie intrapéritonéale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	2 j	30 j
0,35	0	0	0	0
0,40	0	0	10	10
0,50	20	40	80	80
0,60	60	60	70	70
0,70	60	80	80	80
0,75	80	100	100	100
1,00	100	100	100	100

Tableau 13

Les doses sont exprimées en g/kg		Voie entérale	Voie intrapéritonéale
En 24 heures :			
D. M. J. M.		0,75	0,40
D. m. T. M.		>3,00	0,75
DL 50	Courbe de TREVAN	2,85	0,59
	Droite de régression	3,00	0,54
	SOLLMAN	—	0,58
	BEHRENS et KÆRBER	—	0,57
	LITCHFIELD et WILCOXON	3,23 (2,45 — 4,26)	0,55 (0,47 — 0,64)
Dose infraléthale		0,60	0,35
Temps de crise (jours)		3	2
DL 50 limite (LITCHFIELD et WILCOXON)		2,00 (1,58 — 2,52)	0,51 (0,47 — 0,56)

Suivant les doses et la voie d'introduction, les animaux traités commencent à tituber de 15 à 30 minutes après l'administration du produit ; aux doses élevées, certains d'entre eux semblent avoir le train postérieur paralysé : on note également une vasodilatation périphérique très marquée (très visible aux oreilles et aux pattes).

Aux doses très élevées, une phase de prostration apparait, suivie d'un véritable coma comparable à celui que nous avions observé après l'administration de carquéjol. La mort surprend généralement les animaux dans cet état comateux, sans réactions douloureuses prémonitoires.

Examens anatomopathologiques. — Injecté par voie intrapéritonéale, l'acétate de carquéjyle ne provoque aucune lésion histologique. Administré *per os* (4 g kg), l'examen histologique a permis de relever chez un seul animal (sur 5) des lésions microscopiques, alors que, à l'autopsie, l'examen macroscopique ne révélait rien d'anormal ; à cette dose, les lésions étendues, observées aux reins, au foie et à la rate, sont de type nécrotique ; on a noté également chez ce Rat, quel-

ques modifications testiculaires : nécrose de quelques tubes séminipares et modifications dans d'autres tubes de la lignée séminale.

b) *Administration de doses réitérées :*

Les études de toxicité à moyen terme et de tératologie, effectuées dans les mêmes conditions que pour le carquéjol, nous permettent de conclure que l'acétate de carquéjyle, aux doses administrées, ne provoque aucune lésion anatomopathologique et n'exerce aucune influence sensible, sur la reproduction du Rat.

III. — TOXICITE DES DIHYDROCARQUEJOLS

1° A l'égard de la Souris :

a) *Doses toxiques :*

Administré en solution dans l'huile d'olive neutralisée — 5 à 10 % (voie intrapéritonéale) et 25 % (voie orale) — le mélange des dihydrocarquéjols nous a donné les résultats suivants (tableaux 14, 15 et 16).

Tableau 14

Toxicité des dihydrocarquéjols

(Souris : voie entérale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	2 j	30 j
1,00	0	0	0	0
1,50	0	0	0	0
1,75	20	20	20	20
2,00	30	30	50	50
2,50	10	40	40	40
2,75	60	70	70	70
3,00	60	90	90	90
3,50	90	100	100	100

Tableau 15

TOXICITÉ DES DIHYDROCARQUÉJOLS

(Souris : voie intrapéritonéale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	2 j	30 j
0,60	0	0	0	0
0,74	10	10	10	10
0,85	10	20	40	40
0,87	30	50	50	50
0,90	40	70	70	70
1,00	60	90	90	90
1,10	80	100	100	100

Tableau 16

DOSES TOXIQUES A ÉCHÉANCE DE 24 HEURES

Les doses sont exprimées en g/kg		Voie entérale	Voie intrapéritonéale
D. M. J. M.		1,50	0,60
D. m. T. M.		3,50	1,10
DL 50	Courbe de TREVAN	2,46	0,89
	Droite de régression	2,25	0,85
	SOLLMAN	2,50	0,85
	BEHRENS et KÆRBER	2,35	0,87
	LITCHFIELD et WILCOXON	2,35 (2,14 — 2,57)	0,84 (0,78 — 0,92)

β) *Symptomatologie :*

Cinquante pour cent des sujets éprouvés ont présenté, comme après administration de carquéjol, une certaine agitation dès l'injection du mélange des dihydrocarquéjols. Dix minutes après, dès la dose de 0,200 g kg, les animaux tombent en décubitus ventral ou latéral, leur tonus musculaire s'amenuise ou s'effondre complètement : aux doses supérieures

à l'infraléthale — 1,50 g/kg (voie orale) et 0,60 g/kg (voie intrapéritonéale) — la résolution musculaire est complète ; les animaux ne réagissent plus au bruit, et aux fortes doses, les différents réflexes sont abolis ; ils paraissent comme curarisés.

Aux doses supérieures à 1,00 g/kg, au cours de cette phase narcotique, on note seulement, jusqu'à la mort, quelques agitations convulsives précoces. Les sujets appelés à survivre récupèrent leur tonus, trois heures environ après l'injection.

Il n'y a pas de toxicité différée (tableaux 14 et 15) ; les valeurs de la DL 50 limite, déterminées par la méthode de Litchfield et Wilcoxon sont :

— voie entérale . . . . . 2,25 (2,04 - 2,47) g/kg
— voie intrapéritonéale . 0,84 (0,78 - 0,92) g/kg

2° A l'égard du Rat :

a) *Administration d'une dose unique :*

Sans présenter de phase d'agitation après l'injection du mélange des dihydrocarquéjols, les Rats, aux doses voisines et supérieures à l'infraléthale, tombent en décubitus latéral. Les sujets traités restent ainsi prostrés jusqu'à ce que la mort survienne, pour les fortes doses, ou, si les doses administrées ne sont pas mortelles, ils récupèrent leur habitus normal deux ou trois heures après.

Les tableaux 17, 18 et 19 rendent compte des résultats.

Tableau 17

TOXICITÉ DES DIHYDROCARQUÉJOLS

(Rats : voie entérale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	2 j	30 j
1,00	0	0	0	0
1,30	0	0	0	0
1,50	10	10	10	10
2,00	30	30	30	30
2,20	30	40	40	40
3,00	60	60	70	70

Tableau 18

TOXICITÉ DES DIHYDROCARQUÉJOLS

(Rats : voie intrapéritonéale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	3 j	30 j
0,50	0	0	0	0
0,60	0	0	10	10
0,70	0	0	10	10
0,75	0	0	10	10
0,80	10	20	30	30
0,90	20	40	50	50
1,00	60	60	70	70
1,10	60	80	80	80
1,20	100	100	100	100

Tableau 19

Les doses sont exprimées en g/kg	Voie entérale	Voie intrapéritonéale
En 24 heures :		
D. M. J. M.	1,30	0,75
D. m. T. M.	>3,00	1,20
DL 50 — Courbe de TREVAN	2,55	0,97
DL 50 — Droite de régression	2,60	0,97
DL 50 — SOLLMAN	—	0,98
DL 50 — BEHRENS et KÆRBER	—	0,95
DL 50 — LITCHFIELD et WILCOXON	2,55 (2,05 — 3,16)	0,94 (0,87 — 1,02)
Dose infraléthale	1,30	0,50
Temps de crise (jours)	2	3
DL 50 limite LITCHIELD et WILCOXON)	2,45 (1,96 — 3,06)	0,90 (0,82 — 0,99)

Examens anatomopathologiques. — Administrés par la voie orale, les dihydrocarquéjols déterminent quelques lésions testiculaires (mais ces lésions paraissent contingentes) ; le produit est toléré à part une congestion importante des divers vaisseaux dans de nombreux organes.

Les dihydrocarquéjols provoquent par voie intrapéritonéale une nécrose des zones périphériques des organes hépatique, pancréatique, splénique ; il y a une congestion importante des divers viscères avec surtout dans le parenchyme hépatique, quelques zones de nécrose semblant correspondre à une congestion massive des sinusoïdes.

b) *Administration de doses réitérées :*

La toxicité à moyen terme (30 jours de traitement) effectuée comme pour les autres dérivés du carquéjol, a montré que les animaux traités supportaient bien le mélange des dihydrocarquéjols aux doses considérées ; les lésions anatomopathologiques sont du même ordre que celles observées lors de l'intoxication par dose unique.

IV. — TOXICITE

DE L'ISOPROPENYL-2 METHYL-3 PHENOL (PHENOCARQUEJOL)

1° A l'égard de la Souris :

a) *Toxicité immédiate ou proximale :*

α) *Doses toxiques :*

Après administration de phénocarquéjol solubilisé dans l'huile d'olive neutralisée — 2,5 à 10 g % ml (voie intrapéritonéale) et 25 g % ml (voie orale) — nous avons obtenu les résultats suivants (tableaux 20, 21 et 22).

Tableau 20

Toxicité du phénocarquéjol

(Souris : voie entérale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	5 j	30 j
1,00	0	0	0	0
1,50	20	30	50	50
2,00	20	20	50	50
2,50	30	45	65	65
2,75	30	50	70	70
3,00	40	90	100	100
3,50	80	90	100	100
4,00	70	100	100	100

Tableau 21

TOXICITÉ DU PHÉNOCARQUÉJOL

(Souris : voie intrapéritonéale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	5 j	30 j
0,35	0	0	0	0
0,40	0	0	10	10
0,42	0	10	10	10
0,44	0	20	40	40
0,46	0	20	30	30
0,50	10	20	20	20
0,52	10	30	80	80
0,54	30	40	50	50
0,56	40	60	80	80
0,58	40	70	100	100
0,60	60	100	100	100

Tableau 22

DOSES TOXIQUES DU PHÉNOCARQUÉJOL

(échéance de 24 heures)

Les doses sont exprimées en g/kg		Voie entérale	Voie intrapéritonéale
D. M. J. M.		1,00	0,40
D. m. T. M.		4,00	0,60
DL 50	Courbe de TREVAN	2,60	0,55
	Droite de régression	2,20	0,52
	SOLLMAN	2,50	0,50
	BEHRENS et KÆRBER	2,48	0,53
	LITCHFIELD et WILCOXON	2,40 (2,22 — 2,59)	0,55 (0,52 — 0,59)

β) *Symptomatologie :*

L'administration du phénocarquéjol ne détermine aucune agitation précoce, mais provoque, surtout aux fortes doses, une paralysie partielle du train postérieur ; l'animal tombe en décubitus latéral, restant dans un état narcotique pendant environ deux heures pour les doses faibles et moyennes et plus longtemps, aux doses supérieures à 1,00 g/kg ; la respiration est saccadée et spasmodique. L'animal meurt dans une prostration totale ; plusieurs heures après l'injection, une nette hypothermie s'observe encore.

b) *Toxicité différée ou distale :*

Le phénocarquéjol possède une toxicité différée (temps de crise : 5 jours) : ainsi à la dose de 0,50 g kg (voisine de la DL 50), 30 % des animaux traités succombent avant 24 heures ; 5 jours après l'administration, il y avait 80 % de mortalité.

La plus grande dose jamais mortelle apparaît égale ou inférieure à 0,35 g/kg (voie intrapéritonéale) et 1,00 g kg (voie orale) et les DL 50 limites (Litchfield et Wilcoxon) sont :

— 1,80 (1,34 - 2,41) voie orale,

— 0,49 (0,47 - 0,51) voie intrapéritonéale.

La symptomatologie est la même que celle décrite pour l'intoxication proximale : pour les sujets condamnés, l'état comateux persiste jusqu'à la mort.

2° A l'égard du Rat :

a) *Administration d'une dose unique :*

Les tableaux 23, 24 et 25 présentent les résultats obtenus.

Tableau 23

TOXICITÉ DU PHÉNOCARQUÉJOL

(Rats : voie entérale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	3 j	30 j
1,00	0	0	0	0
1,50	0	0	10	10
2,00	20	40	40	40
2,50	30	40	60	60
3,00	30	50	100	100
4,00	50	60	100	100

Tableau 24

TOXICITÉ DU PHÉNOCARQUÉJOL

(Rats : voie intrapéritonéale)

Doses (g/kg)	Pourcentage de mortalité en :			
	8 h	24 h	3 j	30 j
0,30	0	0	0	0
0,35	10	10	10	10
0,40	10	10	10	10
0,60	50	60	70	70
0,70	60	60	80	80
0,75	70	80	80	80
0,80	80	100	100	100
0,85	80	100	100	100

Tableau 25

Les doses sont exprimées en g/kg	Voie entérale	Voie intrapéritonéale
En 24 heures :		
D. M. J. M.	1,00	0,30
D. m. T. M.	>3,50	0,80
DL 50 — Courbe de TREVAN	2,92	0,61
DL 50 — Droite de régression	2,90	0,55
DL 50 — SOLLMAN	—	0,55
DL 50 — BEHRENS et KÆRBER	—	0,55
DL 50 — LITCHFIELD et WILCOXON	3,00 (1,88 — 4,80)	0,63 (0,49 — 0,79)
Dose infraléthale	1,00	0,30
Temps de crise (jours)	3	3
DL 50 limite LITCHIELD et WILCOXON)	2,23 (1,60 — 2,74)	0,51 (0,46 — 0,57)

Les symptômes de l'intoxication aiguë chez le Rat traité par l'isopropényl-2 méthyl-3 phénol sont à rapprocher de ceux obtenus chez la Souris, toutefois, la phase narcotique persiste plus longtemps.

Examens anatomopathologiques. — Par voie orale nous notons très peu de modifications au niveau des divers organes, le produit est bien toléré malgré une légère dilatation vasculaire.

Le phénocarquéjol provoque par voie intrapéritonéale une irritation des divers organes à laquelle succède une nécrose périphérique. Le pancréas surtout est touché, ainsi que la périphérie hépatique ; de plus, le phénocarquéjol, provoque une congestion vasculaire intense.

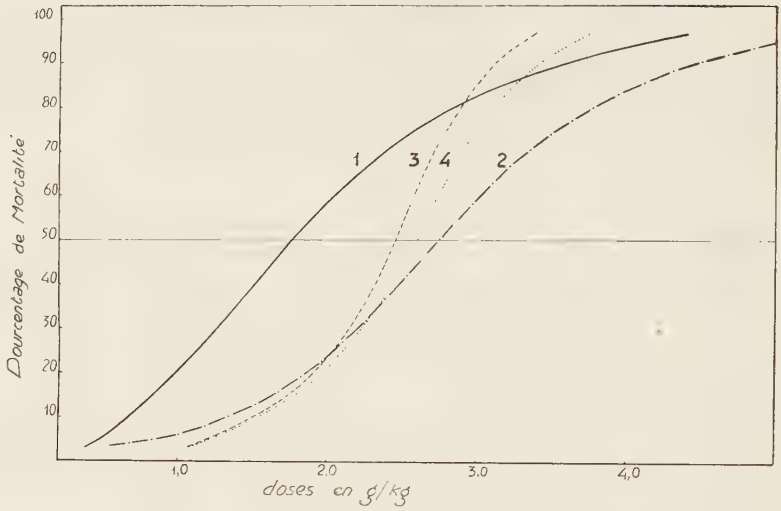
b) *Administration de doses réitérées :*

15 mg/kg, 50 mg/kg (voie intrapéritonéale) et 200 mg/kg (voie orale) de phénocarquéjol, administrés pendant quatre semaines, n'exercent chez le Rat aucune influence

toxique appréciable ; les lésions anatomopathologiques sont semblables à celles décrites précédemment. Le dérivé phénolé du carquéjol ne semble avoir aucun effet sur la descendance du Rat étudiée suivant les méthodes déjà exposées.

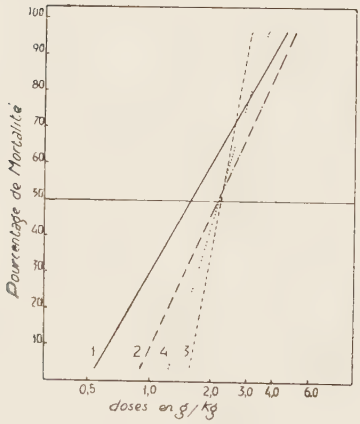
Toxicité comparée

(Souris : voie entérale)



Graphique 1

Courbes de TREVAN



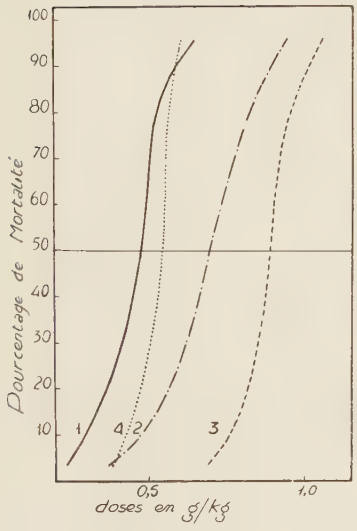
Graphique 2

Droites de régression

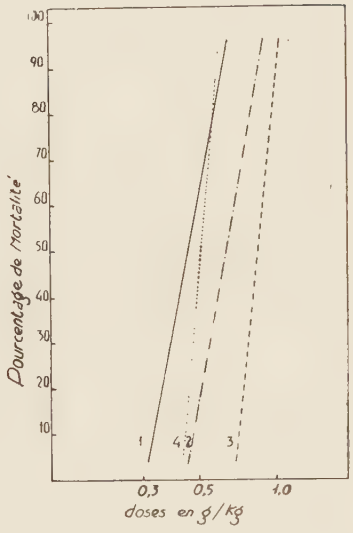
1 : carquéjol
2 : acétate de carquéjyle
3 : dihydrocarquéjols
4 : phénocarquéjol

Toxicité comparée

(Souris : voie intrapéritonéale)



Graphique 3
Courbes de TREVAN

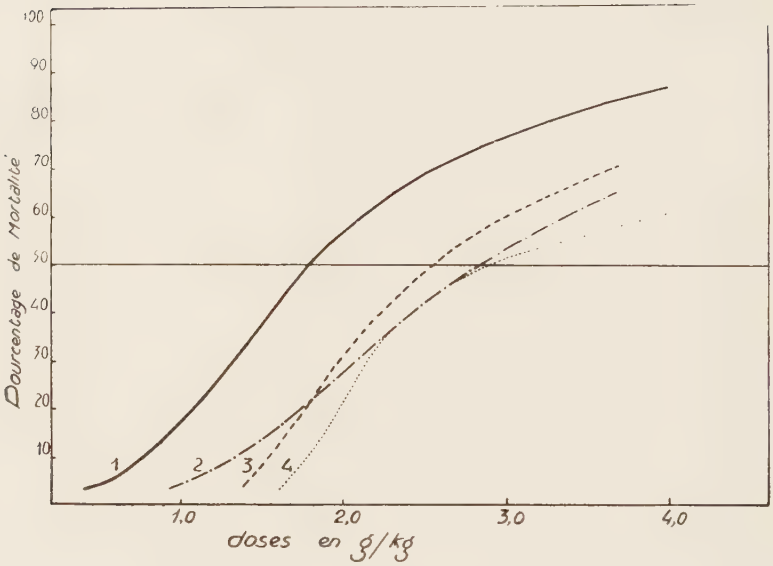


Graphique 4
Droites de régression

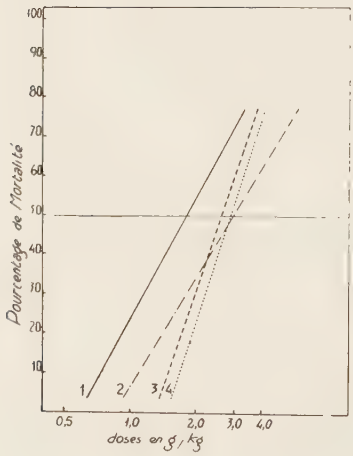
1 : carquéjol
2 : acétate de carquéjyle
3 : dihydrocarquéjols
4 : phénocarquéjol

Toxicité comparée

(Rats : voie entérale)



Graphique 5
Courbes de TREVAN



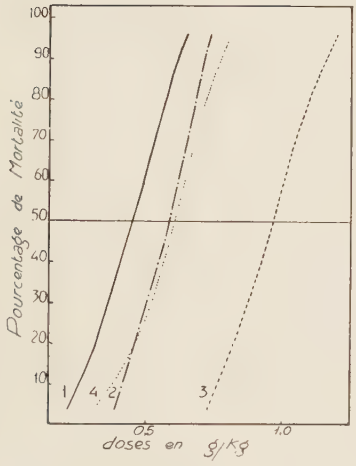
Graphique 6

Droites de régression

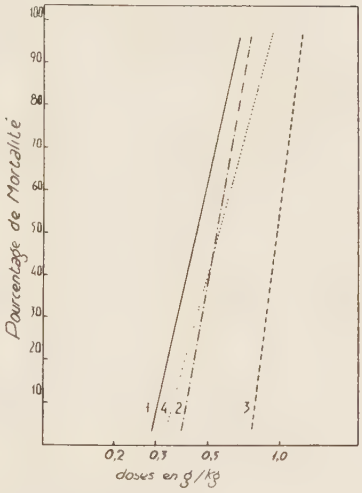
1 : carquéjol
2 : acétate de carquéjyle
3 : dihydrocarquéjols
4 : phénocarquéjol

Toxicité comparée

(Rats : voie intrapéritonéale)



Graphique 7
Courbes de TREVAN



Graphique 8
Droites de régression

1 : carquéjol

2 : acétate de carquéjyle

3 : dihydrocarquéjols

4 : phénocarquéjol

C) Discussion

Nous avons signalé p. 31, que l'étude de la toxicité de certains dérivés orthomenthaniques, a fait l'objet de plusieurs publications [15, 16, 17, 18]. En collaboration avec F. Caujolle, D. Caujolle et Pham-Huu-Chanh, nous avons publié, en 1960, des résultats qui diffèrent quelque peu de ceux que nous venons de présenter (tableau 26).

Malgré une symptomatologie tout à fait identique, les écarts observés peuvent avoir diverses origines :

— nature des produits (mélanges isomériques) ;

— conditions expérimentales différentes (souches d'animaux, alimentation, température des locaux d'expérimentation...) ;

— solutions administrées à des concentrations différentes.

Les produits utilisés pour nos deux expérimentations étaient de même origine, mais provenaient de lots de fabrication différents.

Nous pouvons, à juste titre, incriminer les animaux qui ne provenaient pas d'une même souche ; mais, si la cause principale se trouvait être l'origine des animaux, nous aurions trouvé des écarts dans toutes les déterminations de toxicité ; or, des différences notables n'apparaissent que dans l'intoxication aiguë par voie entérale et spécialement aux doses élevées. Pour administrer ces doses (>3,5 g/kg) nous employions des solutions très concentrées (# 50 %) ; à ces concentrations, le carquéjol et ses dérivés sont très irritants pour les muqueuses œsophagienne et stomacale ; ce qui explique que le pourcentage de mortalité pour une même dose, est plus élevé avec une concentration à 50 % qu'avec une concentration à 25 %, concentration utilisée dans notre seconde expérimentation.

De ces quelques observations, nous pouvons déduire, que par voie intrapéritonéale, la toxicité des dérivés ortho-

Tableau 26

TOXICITÉ COMPARÉE

(voie entérale)

Les doses sont exprimées en g/kg		CARQUEJOL				ACETATE de CARQUEJYLE		DIHYDROCARQUEJOLS				PHENOCARQUEJOL			
		Souris		Rats		Souris		Souris		Rats		Souris		Rats	
		A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
En 24 h	D. M. J. M.	0,50	0,50	0,60	0,60	0,50	0,80	0,65	1,50	0,80	1,30	0,80	1,00	0,90	1,00
	D. m. T. M.	5,00	5,00	5,00	>4,00	6,00	5,00	2,15	3,50	2,20	>3,00	2,00	4,00	2,00	>3,00
	DL 50 :														
	BEHRENS et KÆRBER	1,87	1,87	2,28	—	3,14	2,64	1,32	2,35	1,61	—	1,21	2,48	1,52	—
	LITCHFIELD et WILCOXON	—	1,56	—	1,85	—	2,30	—	2,35	—	2,55	—	2,40	—	3,00
Dose infraléthale		0,50	0,50	0,60	0,60	0,50	0,80	0,35	1,50	0,70	1,30	0,80	1,00	0,90	1,00
Temps de crise (jours)		2	2	3	3	2	1	5	2	5	2	2	5	2	3

A : Résultats publiés antérieurement.

B : Résultats présentés dans ce travail.

menthaniques étudiés, n'est pas, ou n'est que très peu, influencée par les différences de concentrations. Mais, par contre, pour avoir des résultats homogènes et valables, en administration orale, il est nécessaire d'utiliser des solutions de même concentration ; cette remarque est en corrélation avec l'agressivité très marquée du carquéjol pour les muqueuses (accusée, aux doses nécessitées par l'administration entérale).

Nous avons indiqué p. 33, les raisons pour lesquelles nous calculons la DL 50 de cinq manières différentes ; en possession de tous les résultats, nous pouvons donner une appréciation personelle sur chacune d'entre elles, ces remarques offrant, en dehors du cas particulier qui les motive, un intérêt général.

a) Constructions graphiques :

La construction de la courbe sigmoïde de Trevan pour l'évaluation de la DL 50, n'est souvent possible qu'en consentant une marge d'erreur énorme par extrapolation et intrapolation. Cette courbe, transformée en droite de régression par l'emploi de papier semi-logarithmique, devient plus facile à construire ; la détermination de la DL 50 est, de ce fait, considérablement simplifiée.

b) Méthode de Sollman :

La DL 50 calculée d'après la formule de Sollman a une valeur simplement indicative ; elle n'est valable que lorsqu'il n'y a aucun résultat aberrant, c'est-à-dire, lorsqu'il y a une parfaite proportionnalité entre les doses administrées et les pourcentages de mortalité, et nécessite une connaissance rarement atteinte, des valeurs de la DmTM et de la DMJM.

c) Méthode de Behrens et Kærber :

Cette méthode classique de détermination de la DL 50, n'est statistiquement valable que si le nombre de doses administrées est important (10 à 12 séries d'animaux sont néces-

saires pour avoir une valeur significative) ; nous pensons qu'il est préférable de restreindre le nombre de doses (5 à 6, par exemple), mais d'augmenter le nombre d'animaux par dose (celui-ci ne devant pas être inférieur à 20 ou même 30).

Les méthodes de Sollman et de Behrens et Kærber, nécessitent la connaissance de la dose minima toujours mortelle (DmTM) ; p. 34 nous avons fait remarquer que pour cette raison, dans plusieurs cas, nous n'avons pu déterminer la DL 50 par ces techniques.

d) Méthode de Litchfield et Wilcoxon :

C'est aussi une construction graphique ; mais le calcul, d'après la droite de régression obtenue, nous permet, avec une approximation de 95 %, de déterminer les limites dans lesquelles se trouve la DL 50.

Il est à remarquer, que les limites de confiance, « encadrent » dans la majorité des cas, les résultats obtenus avec les autres méthodes.

De toutes ces méthodes, celle de Litchfield et Wilcoxon, semble être la moins critiquable ; c'est donc cette technique que nous avons employée pour déterminer la DL 50 limite, base de notre conclusion sur la toxicité des dérivés orthomenthaniques, à l'égard de la Souris et du Rat.

D) Conclusions

La toxicité des dérivés orthomenthaniques naturels extraits du « carquéja », est identique avec les deux espèces animales utilisées (tableaux 27 et 28 - graphique 9) ; la voie d'administration — voie orale et voie intrapéritonéale — ne modifie pas le classement des produits que l'on pourrait établir ainsi, suivant leur ordre de toxicité décroissante :

1° carquéjol,
2° phénocarquéjol,
3° acétate de carquéjyle,
4° dihydrocarquéjols.

L'acétate de carquéjyle a une toxicité voisine du mélange des dihydrocarquéjols ; toutefois, ses doses infraléthales sont très proches de celles du carquéjol. A plus ou moins brève échéance, le dérivé acétylé semblerait s'hydrolyser dans l'organisme en donnant du carquéjol, plus toxique.

Il est à remarquer aussi, que l'influence de l'insaturation des noyaux sur la toxicité générale, paraît restreinte en série orthomenthanique.

La symptomatologie de ces produits nous a conduit à étudier leur action sur le système nerveux central, en particulier sur les centres du sommeil, de la douleur et de la thermorégulation.

Tableaux 27 et 28

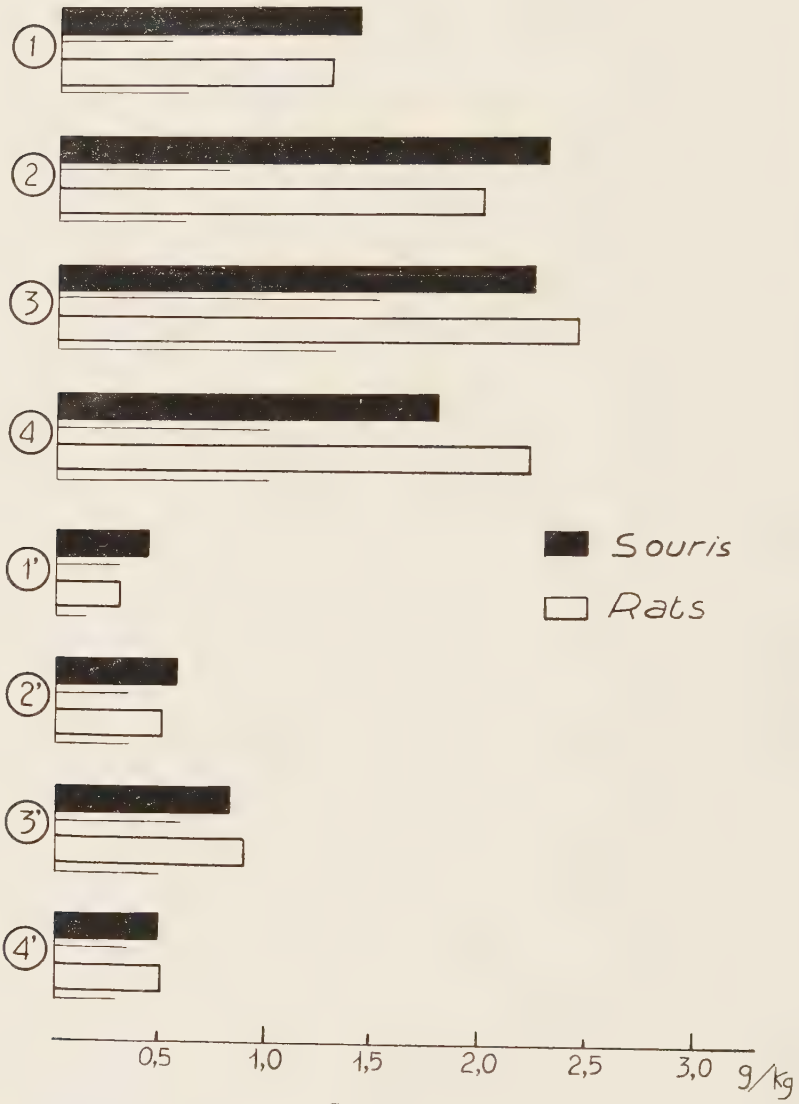
DL 50 limite (Litchfield et Wilcoxon)

(Les résultats sont exprimés en g/kg d'animal)

	Voie entérale		Voie intrapéritonéale	
	Souris	Rats	Souris	Rats
CARQUEJOL	1,42 (1,02 — 1,95)	1,29 (1,14 — 1,90)	0,44 (0,39 — 0,50)	0,31 (0,28 — 0,34)
ACETATE de CARQUEJYLE	2,30 (1,87 — 2,92)	2,00 (1,58 — 2,52)	0,58 (0,54 — 0,63)	0,51 (0,47 — 0,56)
DIHYDROCARQUEJOLS	2,25 (2,04 — 2,47)	2,45 (1,96 — 3,06)	0,84 (0,78 — 0,92)	0,90 (0,82 — 0,99)
PHENOCARQUEJOL	1,80 (1,34 — 2,41)	2,23 (1,60 — 2,74)	0,49 (0,47 — 0,51)	0,51 (0,46 — 0,57)

Doses infraléthales

	Voie entérale		Voie intrapéritonéale	
	Souris	Rats	Souris	Rats
CARQUEJOL	0,50	0,60	0,30	0,15
ACETATE de CARQUEJYLE	0,80	0,60	0,34	0,35
DIHYDROCARQUEJOLS	1,50	1,30	0,60	0,50
PHENOCARQUEJOL	1,00	1,00	0,35	0,30



GRAPHIQUE 9

Toxicité des dérivés orthomenthaniques naturels
(DL 50 limites et doses infraléthales)

	V. O	I. P
Carquéjol	1	1'
Acétate de carquéjyle	2	2'
Dihydrocarquéjols	3	3'
Phénocarquéjol	4	4'

TROISIEME PARTIE

ÉTUDE PHARMACODYNAMIQUE

EFFETS SUR LE SYSTEME NERVEUX CENTRAL

A) *POUVOIR HYPNOTIQUE*

I - Effet Hypnotique du Carquéjol et de ses dérivés

1° CONDITIONS EXPERIMENTALES.

2° RESULTATS.

3° CONCLUSIONS.

II - Effets renforçateurs des Hypnotiques

1° CONDITIONS EXPERIMENTALES.

a) Hypnotique administré a dose liminaire.

b) Hypnotique administré a dose subliminaire.

c) Réinduction du sommeil.

2° RESULTATS.

3° CONCLUSIONS.

A) Pouvoir Hypnotique

Les symptômes de l'intoxication aiguë après administration de carquéjol ou d'un de ses dérivés, nous ont montré — surtout aux doses élevées — que les sujets éprouvés étaient plongés dans un coma narcotique plus ou moins accusé. Ce caractère de l'intoxication nous a engagé à développer l'étude de l'action hypnotique en examinant les effets du carquéjol et de ses dérivés, employés seuls ou associés avec certains anesthésiques.

I - Effets Hypnotiques du Carquéjol et de ses dérivés

1° CONDITIONS EXPERIMENTALES

L'observation a porté sur des lots homogènes d'au moins 10 Souris (variété Swiss) de poids compris entre 20 et 25 grammes, mâles et femelles non gestantes, et placées dans des cages individuelles, dans des conditions homogènes, loin de tout bruit et à une température ambiante de 22 ± 1° C.

Nous avons adopté pour déterminer la durée de la narcose, des tests précis nous permettant de délimiter très régulièrement l'instant où commence la narcose et celui où elle est terminée. Ainsi, l'état de narcose s'identifie à un coma imparfait, avec abolition de la motricité, mais sans abolition des réponses à une excitation mécanique ou douloureuse. Le début en est marqué par l'inertie de l'animal, qui, en position de décubitus latéral ou ventral, est incapable de se mouvoir. La fin de la narcose est caractérisée par la réapparition du réflexe de redressement. Cependant, il est nécessaire de surveiller attentivement les animaux traités, car très souvent, leur inertie est liée à une prostration, et non à une narcose véritable.

Nous avons ainsi déterminé pour chaque sujet le temps de latence et la durée du sommeil narcotique. Il nous a paru intéressant de déterminer également, lorsque les animaux ne « dormaient » pas complètement, le temps de somnolence. Nous appelons :

— « temps de latence », le temps qui s'écoule entre la fin de l'injection et le début du sommeil ;

— « durée de la narcose », le temps défini par les paramètres précédemment envisagés ;

— « temps de somnolence », la durée pendant laquelle l'animal reste prostré, tout en présentant un réflexe de redressement positif. Ce « temps de somnolence » est assez difficile à délimiter mais, après plusieurs expériences, nous arrivions à déterminer à peu près exactement le moment où l'animal retrouvait sa mobilité, c'est-à-dire, son état normal.

2° RESULTATS

Le carquéjol, l'acétate de carquéjyle, le mélange des dihydrocarquéjols et le phénocarquéjol, mis en solution dans l'huile d'olive neutralisée, ont été administrés par la voie intrapéritonéale.

L'effet hynotique est difficile à déterminer avec les produits administrés seuls, car le réflexe de redressement est toujours positif pour les doses voisines ou inférieures à la dose infraléthale (sauf pour le mélange des dihydrocarquéjols) ; après un « temps de latence », les animaux restent prostrés dans une sorte de somnolence comateuse.

Les résultats relatifs à l'étude du pouvoir hypnotique et présentés dans les tableaux suivants, sont exprimés en minutes et les chiffres après la virgule sont des dixièmes de minutes.

Les résultats obtenus figurent dans le tableau 29.

Administrés à des doses voisines de l'infraléthale, le carquéjol et le phénocarquéjol ne possèdent pas de pouvoir

hypnotique propre ; toutefois, on peut assigner à ces différents produits, un tropisme central qui provoque, en plus de troubles comateux, une somnolence en quelque sorte, semi-comateuse. Le « temps de somnolence » est d'ailleurs proportionnel à la quantité de produit injectée.

L'acétate de carquéjyle se différencie déjà nettement par son inactivité.

Lors de l'étude de la toxicité, nous avions indiqué que les sujets traités par le mélange des dihydrocarquéjols, présentaient une narcose intense aux doses toxiques. A la dose de 0,300 g/kg (1/3 de la DL 50), tous les sujets traités ont « dormi » 87 minutes. Dans tous les cas, et à toutes les doses que nous avons utilisées, une période de « somnolence » succède au « sommeil ». Pendant la narcose, la résolution musculaire est particulièrement profonde, dès la dose de 0,450 g/kg, voisine de la moitié de la DL 50.

3° CONCLUSIONS

Les dérivés orthomenthaniques que nous étudions sont pratiquement dépourvus de pouvoir hypnotique, lorsqu'ils sont administrés à des Souris, à des doses non toxiques. Seul le mélange des dihydrocarquéjols, possède une action notable, à tendance comateuse.

D'après leur action hynotique et sédative propre, nous pouvons classer les produits comme suit :
dihydrocarquéjol>phénocarquéjol
>carquéjol>acétate de carquéjyle.

II - Effets renforçateurs des Hypnotiques

1° CONDITIONS EXPERIMENTALES

L'expérimentation a porté sur des lots homogènes de Souris pesant 22 ± 2 grammes ; mâles ou femelles non gestantes ont été indifféremment employés, la nature du sexe ne faisant apparaître aucune variation dans nos résultats.

Tableau 29

POUVOIR HYPNOTIQUE

Doses (g/kg)	CARQUEJOL			ACETATE de CARQUEJYLE			DIHYDROCARQUEJOLS			PHENOCARQUEJOL		
	Temps de latence	Durée du sommeil	Temps de somnolence	Temps de latence	Durée du sommeil	Temps de somnolence	Temps de latence	Durée du sommeil	Temps de somnolence	Temps de latence	Durée du sommeil	Temps de somnolence
0,100	—	0	0	—	0	0	—	0	0	—	0	0
0,200	7	0	10	—	0	0	10	0	15	—	0	0
0,250	7	0	20	—	0	0	8	0	20	10	0	20
0,300	7	0	38	—	0	0	9	27	30	9	0	40
0,400	8	0	60	10	—	30	11	44	52	10	0	60
0,450	7	0	60	10	—	30	7	70	34	13	30	68

Les essais ont porté sur des séries de 20 sujets, dix d'entre eux servant de témoins. Les animaux à éprouver, mis à jeûn depuis la veille, éloignés de tout bruit, et placés à une température maintenue aux environs de 22 ± 1° C, sont isolés dans des cages individuelles.

Nous avons adopté trois techniques :

a) L'hypnotique réactif est administré à dose liminaire 5 minutes après l'injection du produit à étudier. Nous chronométrons alors le « temps de latence » et la « durée du sommeil » définis précédemment.

b) Comme le préconisent Boissier [9, 10] et Raynaud [64], « en raison de l'écart observé dans le temps de sommeil d'un animal à l'autre », nous avons administré l'hypnotique à une dose faible, qui n'engendre pas le sommeil. Dès la fin de l'administration de l'hypnotique, nous injectons le carquéjol ou un de ses dérivés ; le « temps de latence » et le « temps de sommeil » sont alors mesurés.

c) La troisième technique est différente ; l'hypnotique est administré à l'animal, à une dose qui provoque le sommeil ; dès la fin de la narcose, quand le sujet éprouvé se redresse sur ses pattes, on injecte le produit et on observe s'il y a réinduction du sommeil.

Nous avons associé le carquéjol, l'acétate de carquéjyle, le phénocarquéjol et les dihydrocarquéjols, mis en solution à 5 % dans l'huile d'olive neutralisée et administrés par la voie intrapéritonéale, à trois hypnotiques de type différent :

— *un barbiturique :* l'hexobarbital sodique (dérivé monosodé de la 1-2 cyclohexényl-5 méthyl-5 N méthylmalonylurée) commercialisé par les Laboratoires « Théraplix », sous le nom de « Privénal » ;

— *un anesthésique volatil :* l'éther ;

— *la paraldéhyde* (trimère de l'acétaldéhyde) ; nous avons utilisé le produit pur, fourni par les Etablissements « Prolabo ».

Nous avons choisi ces trois anesthésiques car ils déterminent une hypnose très facilement mesurable et leur point d'impact pharmacodynamique est différent.

2° RESULTATS

Afin d'obtenir des résultats valables, notre expérimentation a porté sur un très grand nombre d'animaux, ce qui nous a permis de conclure en faisant intervenir l'analyse statistique.

a) Nous avons calculé l'écart-type « s » de la moyenne « m » de la « durée du sommeil », selon l'expression suivante :

$$s = \sqrt{\frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n-1}}$$

dans laquelle :

n : nombre d'animaux dans la série considérée ;

x — x : différence entre une donnée individuelle et la moyenne des données.

La « durée du sommeil » se trouve donc comprise entre les limites « m » ± « s ». Dans certains cas — que nous signalerons par ailleurs — tous les animaux d'une même série n'ont pas « dormi » ; la valeur de l'écart-type « s » se trouve être supérieure à celle de la moyenne « m », car, pour le calcul de la durée moyenne du sommeil, nous avons tenu compte de tous les sujets expérimentés.

b) Pour comparer l'action renforçatrice des hypnotiques par le carquéjol et ses dérivés, nous avons fait appel à deux tests statistiques de comparaison :

— le test de Tukey ;

— l'analyse de variance.

— *Le test de Tukey :*

Ce test « est un test composite, qui sépare l'ensemble des traitements en divers groupes, en se basant successivement sur trois critères utilisés dans l'ordre indiqué :

1° L'existence d'intervalles exagérés entre deux moyennes quand celles-ci sont arrangées par ordre croissant ;

2° L'existence de moyennes qui s'écartent trop de la moyenne générale ;

3° La constatation d'une variabilité exagérée entre moyennes » (Lison [50]).

— *L'analyse de variance :*

Cette technique, due à Fischer [28], modifiée par Snedecor [71], est basée essentiellement « sur la décomposition des sommes des carrés et des degrés de liberté qui sont attachés » [50].

Nous avons utilisé l'analyse de variance quand le test de Tukey était en défaut, c'est-à-dire, lorsque les séries à comparer ne possédaient pas le même nombre d'animaux ; en effet, le test de Tukey n'est applicable que lorsqu'il y a le même nombre de sujets dans les « échantillons » à comparer.

Les résultats de cette analyse statistique seront présentés en indiquant que la différence d'action entre les produits à étudier est :

— très significative : seuils de probabilité 5 % ($P = 0{,}05$) et 1 % ($P = 0{,}01$) ;

— significative : seuil de probabilité 5 % ($P = 0{,}05$) ;

— ou pas significative.

a) Hypnotique administré a dose liminaire :

α) *Association avec l'hexobarbital sodique :*

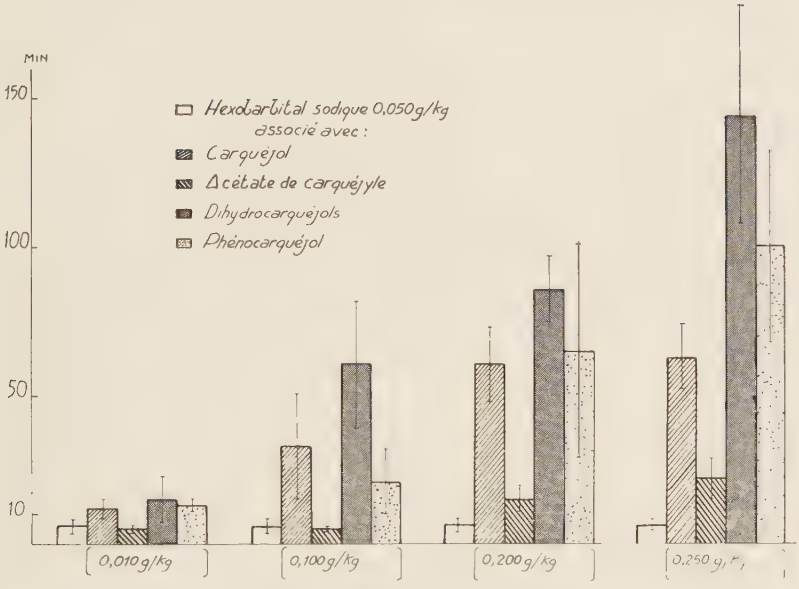
La dose d'hexobarbital sodique utilisée est la dose liminaire d'efficacité absolue sur tous les animaux traités ; 0,050 g/kg d'hexobarbital sodique (voie intraveineuse) provoquent immédiatement chez la Souris, un sommeil d'une durée de 5,9 ± 2,5 minutes (147 essais). Ce « temps de narcose » est augmenté si on associe cet hypnotique au carquéjol et à ses dérivés (tableau 30 et graphique 10).

Tableau 30

Hypnotique administré a dose liminaire

(Association avec l'hexobarbital)

Doses g/kg (voie I.P.)	Hexobarbital sodique (0,050 g/kg, voie intraveineuse) associé avec :			
	carquéjol	acétate de carquéjyle	dihydro-carquéjols	phéno-carquéjol
	Durée de la narcose (en minutes)			
0,010	11,6 ± 3,6	5,0 ± 1,5	15,2 ± 7,8	8,2 ± 1,9
0,025	12,4 ± 11	6,0 ± 1,5	36,0 ± 11	11,2 ± 5,8
0,050	21,6 ± 7,3	5,0 ± 1,5	39,0 ± 11	29,0 ± 11
0,100	32,8 ± 18	5,0 ± 0,7	61,0 ± 22	21,2 ± 11
0,150	20,0 ± 6,3	12,0 ± 3,6	61,0 ± 16	29,6 ± 10
0,200	61,0 ± 13	15,0 ± 3,6	86,0 ± 11	64,8 ± 30
0,250	62,2 ± 11	22,0 ± 7,1	146,0 ± 37	101 ± 33



GRAPHIQUE 10

Hypnotique administré à dose liminaire
(Association avec l'hexobarbital sodique)

— *Comparaison, au moyen de l'analyse de variance, de l'action hypnotique de l'hexobarbital sodique administré seul et associé aux différents produits :*

— Association H.S. + carquéjol ; très significative dès la dose de : 0,010 g/kg ;

— Association H.S. + acétate de carquéjyle : très significative dès la dose de : 0,150 g/kg ;

— Association H.S. + dihydrocarquéjols : très significative dès la dose de : 0,010 g/kg ;

— Association H.S. + phénocarquéjol :
significative dès la dose de : 0,010 g/kg ;
très significative dès la dose de : 0,025 g/k.

— *Comparaison de l'effet hypnotique renforçateur du carquéjol et de ses dérivés au moyen du test de Tukey :*

Tableau 31

Doses (g/kg)	Différence d'action
0,010	(C)>(A D B)
0,025	(C)>(D, A, B)
0,050	(C)>(D, A)> B)
0,100	(C)>(D, A)>(B)
0,150	(C)>(D, A)>(B)
0,200	(C, D, A)>(A, B)
0,250	(C)>(D, A)>(A, B)

Le tableau 31 met en évidence la différence d'action qui existe pour une dose donnée, entre le carquéjol (A), l'acétate de carquéjyle (B), le mélange des dihydrocarquéjols (C) et le phénocarquéjol (D) ; exemple : à la dose de 0,025 g kg, les dihydrocarquéjols ont un pouvoir renforçateur significativement supérieur à celui du phénocarquéjol, du carquéjol et de l'acétate de carquéjyle, dont le pouvoir ne diffère pas significativement entre eux.

Il ressort de ces résultats :

1° que les quatre dérivés orthomenthaniques que nous étudions, renforcent considérablement le pouvoir hypnotique de l'hexobarbital sodique ; l'acétate de carquéjyle étant toutefois, le moins actif.

2° que les dihydrocarquéjols ont un effet renforçateur bien supérieur au phénocarquéjol, au carquéjol et à l'acétate de carquéjyle.

β) *Association avec la paraldéhyde :*

La narcose provoquée par l'administration intraveineuse de 0,600 g/kg de paraldéhyde a une durée de 5,3 ± 3,3 mn.

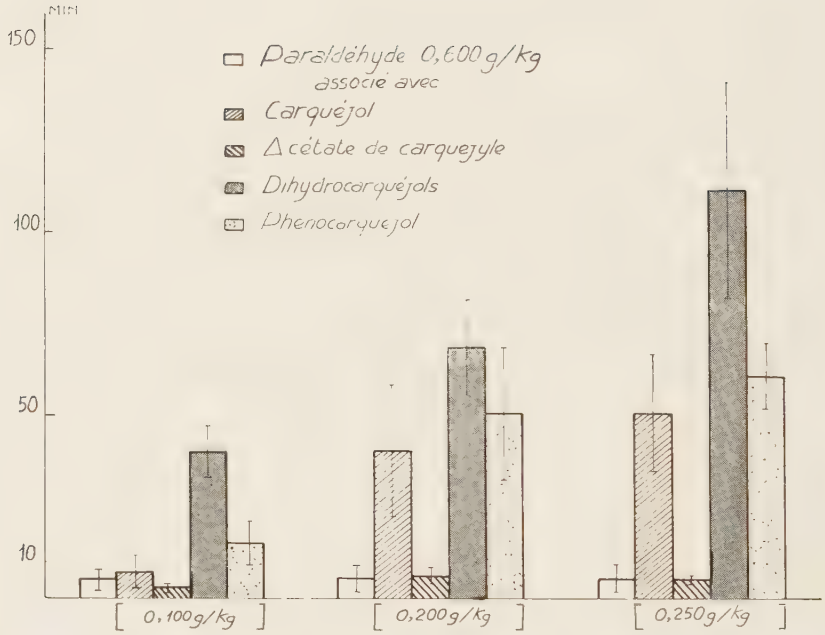
L'hypnose se trouve prolongée si l'on associe à la paraldéhyde, le carquéjol, le phénocarquéjol et les dihydrocarquéjols ; mais la « durée du sommeil » n'atteint jamais celle provoquée par l'association de ces produits avec l'hexobarbital sodique (tableau 32 et graphique 11).

Tableau 32

HYPNOTIQUE ADMINISTRÉ A DOSE LIMINAIRE

(Association avec la paraldéhyde)

Doses g/kg (Voie I.P.)	Paraldéhyde (0,600 g/kg, voie intraveineuse) associée avec :			
	Carquéjol	Acétate de Carquéjyle	Dihydro-carquéjols	Phéno-carquéjol
	Durée de la narcose (en minutes)			
0,100	7,4 ± 4,9	3,0 ± 1,5	40,0 ± 7	15,0 ± 6
0,200	39,8 ± 18	6,0 ± 2,3	78,0 ± 13	50,0 ± 18
0,250	50,2 ± 16	5,0 ± 1,0	110 ± 29	60,2 ± 9
0,300	70,6 ± 10	4,9 ± 1,5	180 ± 20	77,8 ± 20



Graphique 11

Hypnotique administré à dose liminaire
(Association avec la paraldéhyde)

— *Comparaison, au moyen de l'analyse de variance, de l'action hypnotique de la paraldéhyde administrée seule et associée aux différents produits :*

— Association paraldéhyde + carquéjol ; très significative dès la dose de : 0,200 g/kg ;

— Association paraldéhyde + acétate de carquéjyle : pas significative ;

— Association paraldéhyde + dihydrocarquéjols : très significative dès la dose de : 0,100 g/kg ;

— Association paraldéhyde + phénocarquéjol : très signifiactive dès la dose de : 0,100 g/kg.

— *Comparaison de l'effet hypnotique renforçateur du carquéjol et de ses dérivés, au moyen de l'analyse de variance :*

Tableau 33

Doses (g/kg)	Différence d'action	
0,100	(C)> (D)>(A)>(B)	très significative
0,200	(C)>(A)	significative
	(A) et (D)	pas significative
	(D) et (C)	pas significative
0,250	(C)> (D, A)>(B)	très significative
0,300	(A) et (D)	pas significative
	(A) et (D)> (C)>(B)	très significative

Des tableaux 32 et 33 et du graphique 11, il découle, que le pouvoir hypnotique dû à la paraldéhyde est nettement renforcé lorsqu'on associe ce narcotique au carquéjol, au phénocarquéjol et surtout aux dihydrocarquéjols. L'acétate de carquéjyle, utilisé dans les mêmes conditions, s'avère inactif.

γ) *Association avec l'éther :*

Sous une cloche de 20 litres, nous faisons évaporer 5 ml d'éther placés dans une boîte de Pétri ; après 10 minutes, l'évaporation est totale. La Souris à expérimenter, ayant reçu préalablement, par la voie intrapéritonéale, une certaine dose de produit, est introduite sous la cloche ; l'animal, après un « temps de latence » de 90 secondes environ, s'endort. Deux minutes après on retire l'animal de la cloche et on note la durée du sommeil.

Les résultats obtenus sont groupés dans le tableau 34.

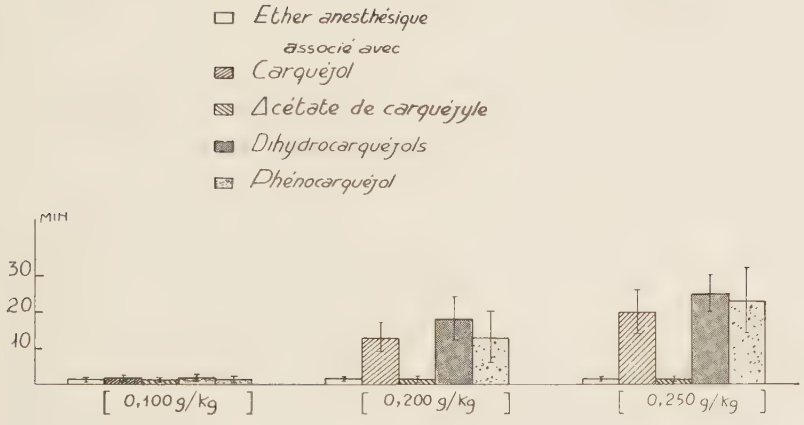
L'association éther-acétate de carquéjyle n'a donné aucun résultat positif, les sujets éprouvés « dormant » environ 90 secondes, temps qui correspond à la durée moyenne du sommeil des animaux témoins traités avec l'éther seul.

Tableau 34

HYPNOTIQUE ADMINISTRÉ A DOSE LIMINAIRE

(Association avec l'éther)

Doses g/kg (Voie I.P.)	Ether anesthésique associé avec :		
	Carquéjol	Dihydrocarquéjols	Phénocarquéjol
	Durée de la narcose (en minutes)		
0,100	2 ± 0,7	2 ± 0,5	1,5 ± 0,4
0,200	13 ± 4	18 ± 6	13 ± 7
0,250	20 ± 6	25 ± 5	23 ± 9
0,300	31 ± 8	50 ± 9	47 ± 10



GRAPHIQUE 12

Hypnotique administré à dose liminaire

(Association avec l'éther anesthésique)

Le carquéjol, le phénocarquéjol et le mélange des dihydrocarquéjols, administrés à des doses supérieures à 0,100 g/kg en association avec l'éther anesthésique, renforcent le pouvoir hypnotique de celui-ci. Le « sommeil » des animaux traités est moins profond que celui obtenu avec les associations précédentes ; le moindre bruit réveille le sujet qui reprend alors une activité normale.

La différence d'action des trois dérivés orthomenthaniques étudiés, n'est pas ici statistiquement significative.

b) Hypnotique administré a dose subliminaire :

α) *Association avec l'hexobarbital sodique :*

La dose subliminaire d'hexobarbital sodique adoptée est de 60 % inférieure à la dose liminaire. A la dose de 0,020 g/kg (voie intraveineuse), les 30 sujets témoins expérimentés, dès la fin de l'injection, passent par une période d'excitation et retrouvent leur état normal 5 minutes après ; à la dose de 0,025 g/kg, les Souris titubent et somnolent pendant 3 à 4 minutes.

Pour tous nos essais, nous avons pris comme dose non hypnotique, 0,020 g d'hexobarbital sodique par kg d'animal.

Nous avons indiqué précédemment le mode opératoire. Les résultats sont présentés ci-après (tableau 35).

L'association hexobarbital sodique-acétate de carquéjyle n'a donné aucun résultat positif : aucune activité hypnotique n'a été observée.

Tableau 35

HYPNOTIQUE ADMINISTRÉ A DOSE SUBLIMINAIRE

(Association avec 0,020 g/kg d'hexobarbital)

Doses g/kg (Voie I.P.)	CARQUEJOL		DIHYDRO-CARQUEJOLS		PHENO-CARQUEJOL	
	Temps de latence	Durée du sommeil	Temps de latence	Durée du sommeil	Temps de latence	Durée du sommeil
0,150	—	—	15 ± 5	20,7 ± 7	—	—
0,200	9	20 (somnolence)	10 ± 2	35 ± 8	10	20 (somnolence)
0,250	9 ± 3	20,4 ± 5	9,3 ± 2	73,6 ± 20	12 ± 3	35,2 ± 15

Le mélange des dihydrocarquéjols se différencie très nettement des autres dérivés orthomenthaniques, mais il faut toutefois atteindre 150 mg/kg pour qu'une narcose de vingt minutes apparaisse. A 250 mg/kg, la différence est encore très significative.

β) *Association avec la paraldéhyde :*

La paraldéhyde injectée par voie intraveineuse, à la dose de 0,300 g/kg provoque une brève narcose d'une durée de 41 ± 20 secondes (essais sur 80 Souris) ; l'administration de carquéjol, d'acétate de carquéjyle, de dihydrocarquéjols et de phénocarquéjol, 5 minutes avant, ne renforce pas le pouvoir hypnotique de la paraldéhyde injectée à cette dose subliminaire (essais sur 150 animaux).

c) RÉINDUCTION DU SOMMEIL :

α) *Association avec l'hexobarbital sodique :*

L'hexobarbital sodique, employé à la dose de 0,050 g/kg, est injecté dans la veine caudale de la Souris. L'action est

immédiate, les animaux s'endorment dès la fin de l'injection (« temps de sommeil » : 5,9 ± 2,5 minutes). Dès le réveil, on administre par la voie intrapéritonéale la substance à étudier.

Comme le montre le tableau 36, le carquéjol, le phénocarquéjol et les dihydrocarquéjols possèdent une action nettement spécifique vis-à-vis de l'hexobarbital sodique, à partir de 0,100 g/kg. Par contre, l'acétate de carquéjyle, aux doses inférieures à 0,300 g/kg, ne possède aucun pouvoir renforçateur.

Le test de Tukey donne le résultat suivant :

— le carquéjol, les dihydrocarquéjols et le phénocarquéjol ne diffèrent pas significativement entre eux lorsqu'ils sont administrés aux doses de 0,025 g/kg, 0,050 g/kg, 0,100 g/kg et 0,200 g/kg ;

— à la dose de 0,250 g/kg, les dihydrocarquéjols donnent un temps de réinduction du sommeil (75,7 minutes) significativement supérieur à celui du carquéjol (47,2 minutes) et du phénocarquéjol (36,6 minutes), qui diffèrent significativement entre eux.

Tableau 36

Réinduction du sommeil

(Association avec 0,050 g/kg d'hexobarbital sodique)

Doses (g/kg) Voie I.P.	CARQUEJOL				DIHYDROCARQUEJOLS				PHENOCARQUEJOL			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
0,025	5,7 + 3,4	2,5 + 5,9	3,9 + 7,4	30 %	6,4 + 2,2	3,2 + 9,3	8,6 + 19	20 %	4,6 + 1,8	0,3 + 0,9	3,0 + 9,5	10 %
0,050	7,8 + 4,7	3,4 + 3,8	15,8 + 15	60 %	6,6 + 3,4	3,1 + 3,0	22,7 + 20	60 %	9,6 + 3,2	1,6 + 2,3	14,7 + 16	50 %
0,100	7,1 + 2,7	4,8 + 4,0	31,5 + 20	90 %	8,1 + 3,3	9,7 + 7,0	38,7 + 33	80 %	4,2 + 1,2	4,9 + 7,6	22,3 + 31	40 %
0,200	6,5 + 2,1	4,9 + 2,1	36,4 + 20	90 %	6,8 + 1,6	8,2 + 3,5	54,7 + 15	100 %	4,5 + 2,1	4,9 + 2,0	31,0 + 14	100%*
0,250	6,6 + 1,7	5,1 + 1,9	47,2 + 20	100 %	7,4 + 3,9	6,5 + 2,4	75,7 + 12,8	100 %	7,5 + 3,1	9,3 + 2,4	36,6 + 12	100%*
0,400	—	—	—	—	6,9 + 2,3	4,5 + 2,1	117 + 40	100 %	—	—	—	—

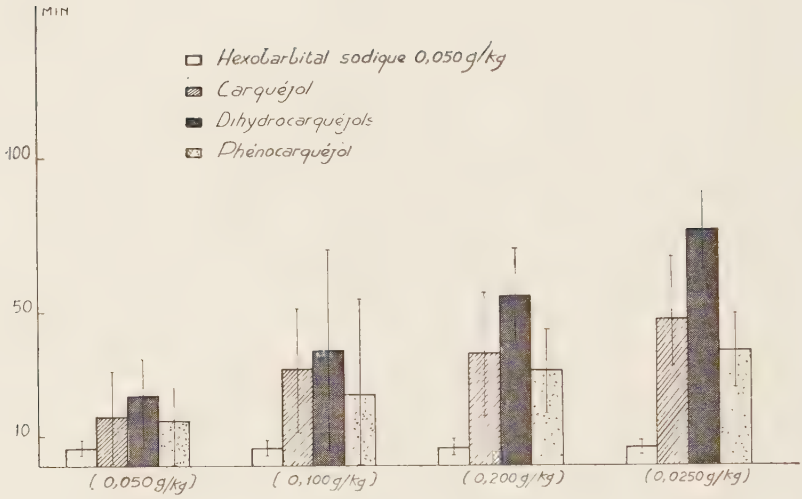
1 : « Temps de sommeil » dû à l'injection intraveineuse de 0.050 g/kg d'hexobarbital sodique.

2 : « Temps de latence » à la réinduction du sommeil.

3 : « Durée du sommeil » réinduit.

4 : Pourcentage d'animaux « réendormis ».

* : Après le « sommeil » les animaux ont « somnolé » 30 minutes environ.



GRAPHIQUE 13

Réinduction du sommeil

(Association avec l'hexobarbital sodique)

β) *Association avec la paraldéhyde :*

La paraldéhyde est injectée, par la voie intraveineuse, à la dose de 0,600 g/kg, en solution à 4 % dans du sérum physiologique. Dès la fin de l'injection, les animaux tombent en décubitus latéral et restent dans cette position 5,3 ± 3,3 minutes : il fallut des doses relativement élevées de carquéjol et de phénocarquéjol pour réinduire ce sommeil ; beaucoup d'animaux ainsi traités, somnolaient mais ne dormaient pas (tableau 37). Par contre, les sujets traités par les dihydrocarquéjols, se « réendormaient » et la durée de cette réinduction du sommeil est à peu près voisine de celle obtenue avec l'hexobarbital sodique. Aux doses considérées, l'action de l'acétate de carquéjyle est nulle.

L'analyse statistique (test de Tukey) précise que les dihydrocarquéjols ont un effet réinducteur du sommeil, après narcose à la paraldéhyde, significativement supérieur à celui du carquéjol et du phénocarquéjol qui ne diffèrent pas significativement entre eux.

γ) *Association avec l'éther :*

Nous introduisons l'animal à traiter sous une cloche à éther. Celui-ci s'endort après un temps de latence d'environ 2 minutes. Après son sommeil, qui dure de 1 à 2 minutes, nous injectons par la voie intrapéritonéale, le produit à étudier. Même administrés à des doses élevées (dose infraléthale), le carquéjol et ses dérivés n'ont pas réinduit le sommeil. Les résultats obtenus sont très irréguliers ; seul le dérivé dihydrogéné provoque une narcose dont la durée n'est jamais supérieure à celle provoquée sous inhalation préalable d'éther ; seule différence à noter, les sujets traités avec le mélange des dihydrocarquéjols, ont un sommeil assez agité.

Tableau 37

Réinduction du sommeil

(Association avec 0,600 g/kg de paraldéhyde)

Doses (g/kg) Voie I.P.	CARQUEJOL					DIHYDROCARQUEJOLS					PHENOCARQUEJOL				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
0,100	10,2 ± 3,8	10,3 ± 3,1	7,4 ± 12	30 %	#40	7,0 ± 2,1	8,3 ± 1,9	33,2 ± 8,4	100 %	—	6,2 ± 2,4	10,4 ± 3,1	13,3 ± 18	40 %	#30
0,200	6,7 ± 1,7	9,5 ± 2,8	20,6 ± 27	40 %	#60	7,1 ± 2,8	9,4 ± 2,9	51,2 ± 14	100 %	—	7,1 ± 2,3	10,5 ± 4,3	16,9 ± 18	50 %	#40
0,300	7,9 ± 3,0	9,7 ± 2,7	35,8 ± 28	70 %	#70	6,4 ± 3,2	8,7 ± 3,4	95,1 ± 33	100 %	—	7,4 ± 2,4	9,1 ± 2,1	26,8 ± 28	50 %	#40

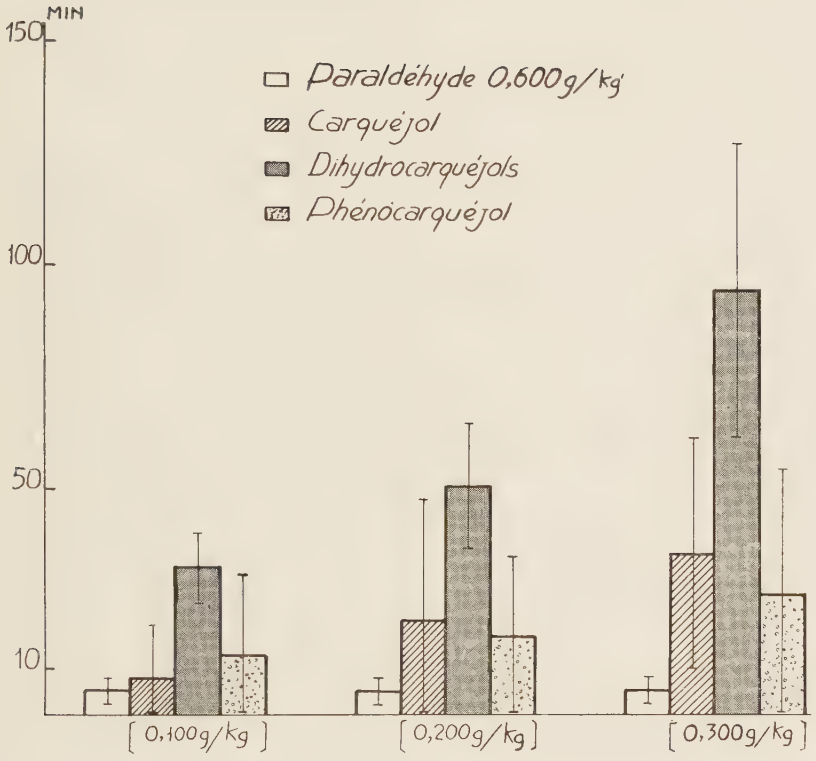
1 : « Temps de sommeil » dû à l'injection intraveineuse de 0,600 g/kg de paraldéhyde.

2 : « Temps de latence » à la réinduction du sommeil.

3 : « Durée du sommeil » réinduit.

4 : Pourcentage d'animaux « réendormis ».

5 : Temps de somnolence des animaux non « réendormis ».



GRAPHIQUE 14

Réinduction du sommeil

(Association avec la paraldéhyde)

3° CONCLUSIONS

Pour l'étude de l'action renforçatrice des hypnotiques par le carquéjol et ses dérivés, nous avons utilisé 1 140 Souris ; 12 animaux seulement ont succombé dans les 3 jours qui suivirent l'expérimentation. Nous pouvons donc considérer que — aux doses utilisées — les effets toxiques postérieurs à cette administration sont nuls.

Les résultats que nous venons de présenter permettent sans nul doute de dire que les dérivés orthomenthaniques étudiés, aux doses inférieures à l'infraléthale — le dérivé acétylé mis à part — renforcent considérablement l'activité hypnotique de l'hexobarbital sodique, de la paraldéhyde et de l'éther.

En conclusion, nous pouvons dire que les différents résultats obtenus par les trois méthodes se recoupent entièrement ; toutefois, la durée de la narcose est moins prolongée dans les 2^{e} et 3^{e} techniques (hypnotique administré à dose subliminaire et réinduction du sommeil), ceci en raison de la fragilité du sommeil.

B) *POUVOIR ANALGESIQUE CENTRAL*

I - Méthodes utilisées

1° TESTS DOULOUREUX :

a) Epreuve mécanique.

b) Epreuve thermique.

c) Epreuve électrique.

2° PRESENTATION DES RESULTATS :

a) Procédé quantal.

b) Procédé proportionnel.

3° ANALGESIQUES DE REFERENCE UTILISES.

II - Effets observés

1° AU MOYEN D'EPREUVES MECANIQUES :

Essai du chlorhydrate de morphine, du carquéjol, de l'acétate de carquéjyle, des dihydrocarquéjols et du phénocarquéjol.

2° AU MOYEN D'EPREUVES THERMIQUES :

α) Procédé proportionnel (température variable) :

a) *Essai du chlorhydrate de morphine.*

b) *Essai du carquéjol.*

c) *Essai de l'acétate de carquéjyle.*

d) *Essai des dihydrocarquéjols.*

e) *Essai du phénocarquéjol.*

β) Procédé quantal (température fixe).

γ) Conclusion.

3° AU MOYEN D'EPREUVES ELECTRIQUES :

α) Procédé proportionnel :

a) *Essai du chlorhydrate de morphine.*

b) *Essai du carquéjol.*

c) *Essai de l'acétate de carquéjyle.*

d) *Essai des dihydrocarquéjols.*

e) *Essai du phénocarquéjol.*

β) Procédé quantal.

γ) Conclusion.

4° DISCUSSION ET CONCLUSION.

III - Potentialisation du pouvoir analgésique central de la codéïne

1° EPREUVE MECANIQUE :

Résultats obtenus avec la codéine, et l'association de la codéïne avec le carquéjol et ses dérivés.

2° EPREUVE THERMIQUE :

α) Procédé proportionnel :

a) *Essai de la codéine.*

b) *Association codéine-carquéjol.*

c) *Association codéine-acétate de carquéjyle.*

d) *Association codéine-dihydrocarquéjols.*

e) *Association codéine-phénocarquéjol.*

β) Procédé quantal.

γ) Conclusion.

3° EPREUVE ELECTRIQUE :

α) Procédé proportionnel :

a) *Essai de la codéine.*

b) *Association codéine-carquéjol.*

c) *Association codéine-acétate de carquéjyle.*

d) *Association codéine-dihydrocarquéjols.*

e) *Association codéine-phénocarquéjol.*

β) Procédé quantal.

γ) Conclusion.

4° DISCUSSION ET CONCLUSION.

B - Pouvoir analgésique central

I - Méthodes utilisées

Les tests utilisés en général, pour étudier chez un animal convenablement choisi, le pouvoir analgésique d'un produit, consistent à provoquer, par un stimulus d'intensité mesurable, une douleur expérimentale, et à déterminer les doses d'analgésiques capables d'abaisser le seuil de perception de la douleur.

1° TESTS DOULOUREUX

Les méthodes de détermination du pouvoir analgésique sont très nombreuses [3, 6, 22] ; le choix n'en reste pas moins délicat, car ces techniques sont toutes critiquables [58, 59, 67] et il serait illusoire de se fier aux résultats fournis par un seul test.

Pour conclure sur la validité des résultats, il est pratiquement nécessaire d'utiliser plusieurs méthodes et plusieurs espèces animales (Friebel) [30].

En 1948, Miller [51] posait les exigences suivantes :

— l'excitation, provoquant la douleur, doit être exactement mesurable et reproductible ;

— la méthode doit permettre de construire, en toute objectivité, une courbe continue exprimant les relations entre l'intensité de l'agression et les doses de l'analgésique qui en équilibrent l'effet douloureux ;

— elle doit être assez sensible pour pouvoir évaluer également, des analgésiques centraux d'effets très inférieurs à ceux de la morphine elle-même.

Ces diverses raisons nous ont amené à éprouver les pouvoirs analgésiques avec trois techniques distinctes, utilisant, pour déclencher la douleur, des stimuli mécaniques, thermiques et électriques :

— Test par excitation mécanique de HAFFNER [35],
— Test par excitation thermique de WOOLFE et MAC DONALD [82],
— Test par excitation électrique de RUCKSTUHL [66],

a) EPREUVE MÉCANIQUE.

HAFFNER paraît être le premier auteur ayant utilisé un animal de laboratoire, dès 1929, pour l'étude expérimentale du pouvoir analgésique ; il place une pince artérielle à la racine de la queue d'une Souris ; l'animal crie se retourne vers la pince pour la mordre et chercher à s'en débarrasser. Un analgésique administré à la Souris retardera ou supprimera ces différents mouvements de défense et de lutte.

Ce test a fait l'objet de critiques diverses, dont BIANCHI et FRANCESCHINI [7], en 1954, ont contesté la validité ; ces auteurs ont confronté les résultats obtenus avec le test de Haffner, d'une part, avec six autres tests différents, utilisés par 35 auteurs, d'autre part. BIANCHI et FRANCESCHINI concluent en faveur du test de Haffner, suivant un protocole très précis.

Technique. — A l'aide d'une pince courbe vasculaire de Dieffenbach (longueur : 3,5 cm), nous pinçons la base de la queue de la Souris pendant 30 secondes ; le premier réflexe de défense de l'animal est le cri : nous considérons ce cri comme la réponse-seuil. Un tri préalable des Souris s'impose, certains sujets ne réagissant pas : 75 à 85 % des animaux ont répondu positivement (expérimentation réalisée sur plus de 1 000 Souris Swiss de même souche, mais d'âge, de sexe et de poids différents).

La substance à étudier est injectée intrapéritonéalement et 15, 30, 45, 60, 90, 120 minutes après, la pince artérielle est appliquée pendant 30 secondes.

b) Epreuve thermique.

La stimulation calorifique par contact des pattes de la Souris est un test très employé pour l'étude des analgésiques. Woolfe et Mac Donald [82] furent les premiers à l'utiliser en 1944 ; depuis, de nombreuses variantes ont été proposées ; elles sont toutes basées sur les deux principes suivants :

Température variable. — Woolfe et Mac Donald [82] placent une Souris sur une plaque de zinc chauffée de 50 à 70° C ; ils évaluent l'intensité du stimulus, en déterminant la température à partir de laquelle l'animal est incommodé.

D'autres auteurs parmi lesquels Jackson [41], Cordier [25], Lespagnol [47], Porszasz [63], utilisent le même principe en plaçant la Souris dans un bécher chauffé progressivement au bain-marie et adoptent, comme test de réaction à la douleur, le saut de l'animal hors de l'enceinte chauffée.

Température fixe. — La température de la plaque chauffante est constante ; on mesure le temps au bout duquel apparaît une réaction chez l'animal expérimenté (léchage des pattes, ou bond par exemple).

Suivant la source de chauffage utilisée, la température de la plaque est différente :

— Eddy et collaborateurs [26, 27] fixent, pour la Souris, cette température à 55° C.

— Herr et collaborateurs [36] à 53° C pour la Souris et 56° C pour le Rat.

— Ohlsson [60] montre qu'à 60° C, « the mice react not only more quickly but also considerably more constantly ».

— Jacob et collaborateurs [44, 45] ont, avec la Souris, « recouru à la température de 65° C, non pas malgré, mais à cause de son caractère nettement algésique ».

Technique. — L'appareil — « thermotest » — que nous avons employé est représenté à la page 110. Une résistance électrique chauffe un récipient rempli d'eau (capacité : 7 l) ; la partie supérieure de ce récipient est formée d'une plaque circulaire de cuivre sur laquelle repose un cylindre de matière plastique ($\varnothing = 19$ cm, $h = 13{,}5$ cm). Un thermomètre à contact « Vertex » - au $1/10^{e}$ de degré - donne exactement la température de la plaque. Un système de vidange permet de changer l'eau assez rapidement.

Ce « thermotest » a l'avantage de pouvoir être utilisé de deux façons différentes :

— La température de la plaque est variable, le temps de maintien des Souris en contact avec la source chauffante importe peu. On note la température pour laquelle le sujet expérimenté est incommodé.

— Le stimulus thermoalgique peut être constant, c'est-à-dire, la température de la plaque chauffante est fixe et l'on mesure le temps qui sépare le moment où l'on met l'animal sur cette plaque et le moment où celui-ci présente une réaction caractéristique de douleur.

Grâce à la grande surface de la plaque de cuivre, des cylindres de matière plastique de différents diamètres peuvent être utilisés, permettant ainsi de tester, par cette méthode, des animaux autres que les Souris, Rats et Cobayes en particulier.

Nous avons utilisé, pour nos essais, les deux possibilités de mesure que nous donnait l'appareil, c'est-à-dire, d'une part, mesure de la température et, d'autre part, mesure du temps d'exposition.

α) Le « thermotest » est mis en état de marche : la température de la plaque chauffante augmente progressivement ; à 35° nous mettons une Souris à l'intérieur du cylindre de

plastique : l'animal explore les parois de sa nouvelle « cage », la température augmentant toujours ; la Souris se lèche les pattes antérieures, puis postérieures et saute. Nous avons choisi, comme seuil de la douleur, le léchage des pattes antérieures. Chen [20], Jacob [42, 43].

Remarques. — De nombreux auteurs utilisant ce test prennent comme réflexe-seuil, le premier saut de la Souris. Nous avons jugé préférable de ne pas attendre la température entraînant cette réaction de fuite ; en voici les raisons :

1° après plusieurs expositions, si la plaque est trop chaude, l'animal saute dès qu'il se trouve au contact de l'appareil (nous avons à faire ici à l'ébauche d'un réflexe conditionné de la Souris),

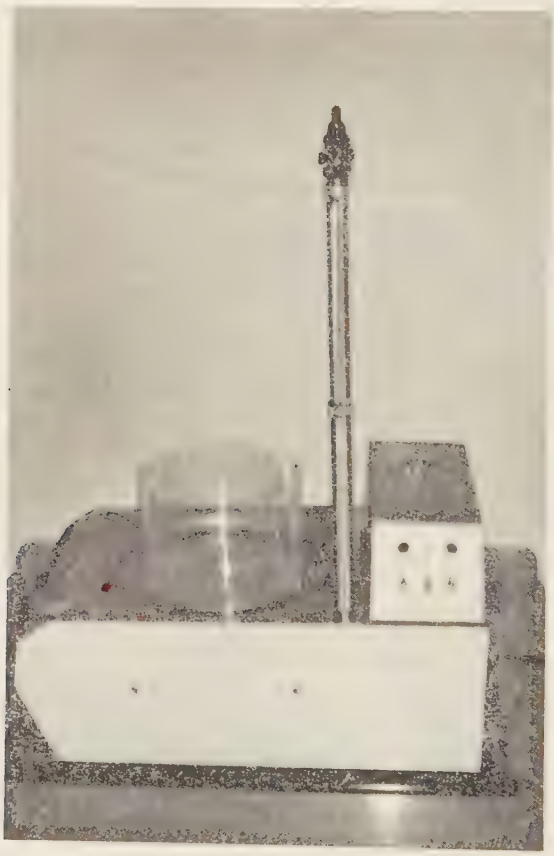
2° la réaction de léchage est très nette et très caractéristique et se manifeste à une température $\leqslant 50°$, température qui ne lèse pas les pattes des animaux même après quatre ou cinq expositions successives,

3° à certaines doses, les sujets éprouvés par nos produits étaient trop choqués, atones, inaptes à accomplir l'effort musculaire qu'exige le saut.

Nous avons réalisé l'expérience de la façon suivante : nous notons la température de léchage des pattes antérieures de la Souris ; retiré du récipient, l'animal est mis au repos 15 minutes ; l'eau du « thermotest » est alors remplacée par de l'eau tiède à 35°. Nous injectons le produit à essayer et 15 minutes, 45 minutes, 90 minutes et 120 minutes après l'injection, nous renouvelons l'expérience.

Comme l'ont fait remarquer divers auteurs, Lespagnol [47], Izard [40], Truchaud [77], les variations du seuil thermique de réaction de l'animal sont faibles dans le temps ; nos essais préliminaires à l'expérimentation ont confirmé les observations de ces auteurs ; 20 sujets témoins ont subi, toutes les 30 minutes, pendant 8 heures, l'épreuve du stimulus thermoalgique ; le seuil thermique de réaction par léchage des pattes a été pratiquement constant pour

chacun des animaux, avec une variation de 1° C pour trois sujets seulement : il n'y a donc à redouter ni accoutumance, ni sensibilisation. Par contre, le seuil thermique diffère quelque peu selon les sujets : sur 550 animaux expérimentés, nous relevons que le seuil le plus bas est 47°C, le plus élevé atteignant 50°C.



Appareil « Thermotest » utilisé pour la détermination du pouvoir analgésique (épreuve thermique)

β) La température de la plaque de cuivre du « thermotest » est portée à 65° C, comme le conseille Jacob [44] ; cette température reste absolument constante pendant toute la durée de l'expérimentation. Les animaux sont exposés jusqu'à l'apparition de la première réponse qui se manifeste soit par le lèchement, soit par le bond. Afin d'éviter les brûlures des pattes qui risquent d'apparaître à cette température, nous avons exposé trois fois seulement les Souris au stimulus thermoalgique (une exposition avant l'injection du produit et deux expositions réalisées 30 minutes et 60 minutes après l'injection).

Les temps de réaction des animaux témoins (temps mesuré avant l'injection) sont en général très cohérents. Les 560 Souris utilisées dans nos essais ont réagi au bout de $3{,}3 \pm 1{,}1$ secondes (avec des valeurs extrêmes de 6,3 et 1,6 secondes).

c) Epreuve électrique.

L'utilisation des méthodes électriques, par stimulation de la pulpe dentaire du Lapin, est appréciée par de nombreux auteurs. Ruckstuhl (1939) [66] a été le premier à l'utiliser ; Wilhemi (1949) [81], Fleisch (1953) [29], Yim (1955) [83], Hertle (1957) [38], Montagne (1957) [52] et plus récemment Cheymol (1959) [23], Paeile (1962) [61] et Laffargue (1963) [46] en ont donné des caractéristiques précises.

Pour nos essais, nous avons utilisé la méthode préconisée par Cheymol et collaborateurs.

Technique. — La veille de l'expérimentation, sur des Lapins de 2 à 2,5 kg non anesthésiés, nous perforons latéralement les deux incisives antéro-postérieures (le plus près possible de la gencive) à l'aide d'une fraise dentaire n° 0, à tête sphérique, et à une profondeur de 1 à 2 millimètres.

La stimulation est effectuée à l'aide d'un excitateur électronique « Stimulator » de Netheler et Hinz, dont les impulsions sont bien définies et exactement reproductibles.

Nous utilisons des impulsions rectangulaires, de fréquence 6 par seconde et de durée 0,1 milliseconde ; l'excitation varie de 1 à 2 secondes (une excitation plus longue provoquerait le phénomène de sommation) ; le voltage variable définit le seuil d'apparition de la douleur.

L'animal est branché en série avec le stimulateur, au moyen d'un jeu de pinces, jouant le rôle d'électrodes amovibles ; ces pinces d'un poids négligeable (inférieur à 10 g), n'exercent aucune action mécanique sur les ramifications nerveuses dénudées.

Pendant la durée de l'expérience, le Lapin est placé dans une boîte à contention, en bois (25 × 40 × 20 cm), la tête seule émergeant à l'extérieur.

Nous déterminons le seuil douloureux en augmentant progressivement le voltage jusqu'à obtention d'une réponse nette de l'animal : l'expression de douleur à l'excitation se traduit par un mouvement très fort de mastication.

Nous avons vérifié la constance du seuil chez le même animal au cours d'une journée, et la variation du voltage-seuil d'un animal à l'autre.

Tableau 38

EXCITATION DE LA PULPE DENTAIRE DU LAPIN

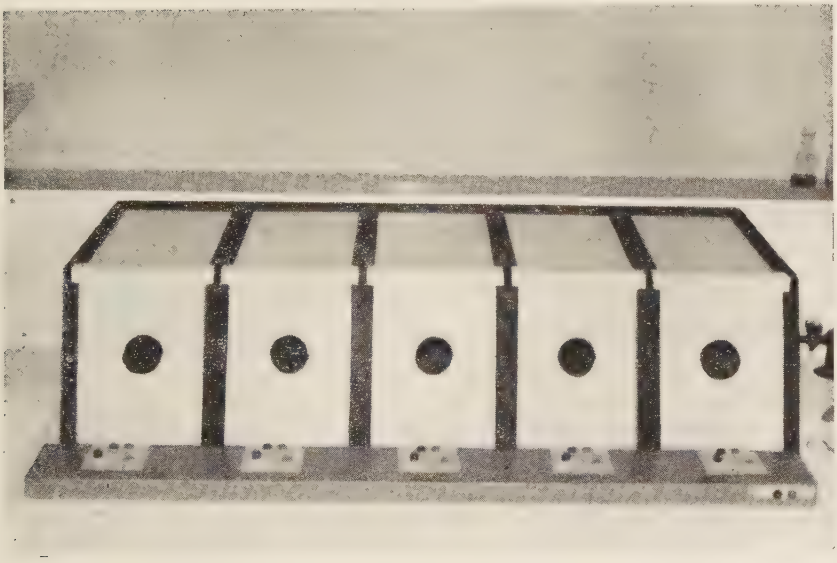
Variation du voltage-seuil au cours d'une journée

(Les résultats sont exprimés en volts)

Lapins	10 h	10 h 15	11 h	14 h 15	15 h	16 h	18 h
N° 1	11	10,5	11	11,5	10,5	11	11
N° 2	10,5	10,5	12	11,5	12	10	11
N° 3	11	11	12	12,5	12	10,5	11
N° 4	12	11,5	12	11	11	11,5	11
N° 5	10,5	10,5	11	11	10,5	10,5	11

Ce tableau montre bien que sur un animal non traité, le voltage-seuil est à peu près constant au cours de la journée (24 heures après le forage).

Remarque. — Au cours de notre expérimentation, nous avons été amené à modifier quelque peu la méthode précédemment décrite ; nous avons utilisé l'appareillage présenté ci-dessous, qui nous a permis de travailler plus rapidement et d'une manière beaucoup plus exacte. Cinq Lapins sont mis côte à côte dans une grande cage à contention, un système électrique approprié les relie à l'aide de pinecs, au stimulateur électronique.



Appareil utilisé pour la détermination du pouvoir analgésique (épreuve électrique)

Ce montage nous a permis, d'une part, d'augmenter le nombre d'animaux dans chaque série, et, d'autre part, de laisser pendant toute la durée de l'expérimentation les pinces dans les incisives du sujet expérimenté ; le Lapin ne s'en trouve nullement incommodé et ainsi l'on est certain, la pince étant toujours dans la même position, que les excitations sont fidèlement reproduites.

2° PRESENTATION DES RESULTATS

Les trois méthodes décrites précédemment nous ont permis d'utiliser deux procédés pour exprimer les résultats :

— le procédé quantal,

— le procédé proportionnel.

a) Le procédé quantal.

Ce procédé consiste à déterminer la proportion des animaux qui peuvent être considérés comme analgésiés. On détermine ainsi la dose de produit qui agit sur 50 % des animaux : c'est la dose efficace 50 (DE 50) ; on a calculé cette DE 50 à l'aide de la méthode de Litchfield et Wilcoxon [49].

Le « pourcentage d'action », pour chaque dose, a été obtenu en faisant la demi-somme du pourcentage de sujets effectivement analgésiés, 30 minutes et 60 minutes après l'injection du produit.

— *Epreuve mécanique :* Dans la méthode de Haffner, le seuil à la douleur suit la loi du tout ou rien. L'animal est donc considéré comme analgésié lorsqu'il supporte la pression de la pince artérielle sans crier.

— *Epreuve thermique (température fixe) :* Nous considérons que la Souris est analgésiée lorsque son temps de réaction (durée d'exposition sur la plaque chauffante) est accru de 50 %.

— *Epreuve électrique :* Si le Lapin expérimenté supporte un voltage de 50 % supérieur au voltage-seuil initial, il est considéré comme analgésié.

b) Le procédé proportionnel.

L'étude des variations des seuils douloureux dans le temps, présente le gros avantage de se prêter à une représentation synoptique des résultats (Jacob [45]). Avec les résultats obtenus, on peut estimer l'activité du produit et sa durée d'efficacité ; ce dernier paramètre est très souvent négligé dans l'étude des analgésiques.

Truchaud [78] préconise de remplacer la dénomination « activité analgésique » par « puissance analgésique », valeur qui exprime simultanément l'intensité et la durée de l'action analgésiante. Sur les graphiques originaux, nous avons mesuré, à l'aide d'un planimètre polaire compensateur OTT, les surfaces polygonales déterminées par les courbes d'action des produits envisagés à différentes doses. Les « aires analgésiques » ainsi mesurées sont comparées entre elles, et il est alors très aisé de dire que tel analgésique est plus puissant que tel autre. Cette méthode n'a pu être appliquée qu'avec les résultats obtenus par les épreuves thermique et électrique, la loi du tout ou rien régissant l'épreuve mécanique excluant toute mesure planimétrique.

3° ANALGESIQUES DE REFERENCES UTILISES

Le pouvoir analgésique des dérivés orthomenthaniques est comparé à ceux du chlorhydrate de morphine et du chlorhydrate de codéine. L'action analgésique centrale des dérivés orthomenthaniques étudiés ne s'avère notable qu'à forte dose pour le carquéjol, et à très forte dose pour ceux de ses dérivés que nous avons éprouvés ; par contre, en associant le carquéjol et certains de ses dérivés à la codéine, le pouvoir analgésique de cet alcaloïde est fortement exalté.

Aussi bien, morphine et codéine ont été utilisées systématiquement dans nos essais comme analgésiques centraux de référence.

II - Effets observés

Suivant les techniques décrites précédemment, nous avons comparé l'effet sédatif du carquéjol et de ses dérivés à celui de la morphine et incidemment, à celui de la codéine. Tous ces produits ont été administrés par voie intrapéritonéale.

Effets sédatifs observés :

1° AU MOYEN D'EPREUVES MECANIQUES

Les résultats obtenus en appliquant cette méthode sont résumés dans le tableau 39 ; ils nous permettent de conclure que le carquéjol et ses dérivés sont, aux doses infraléthales, impuissants à abolir la sensation douloureuse que provoque le pincement de la queue de la Souris.

Les essais ont porté sur un ensemble de 260 Souris.

Tableau 39

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve mécanique)

Produits administrés (g/kg)	Durée moyenne de l'analgésie complète en min	Pourcentage de sujets réfractaires
Chlorhydrate de morphine 0,010	85	10
— 0,012	105	20
Carquéjol 0,250	0	100
Acétate de carquéjyle .. 0,250	0	100
Dihydrocarquéjols 0,250	0	100
Phénocarquéjol 0,250	0	100

La technique de Haffner ne permet donc pas de mettre en évidence un effet analgésique du carquéjol et de ses dérivés. Il a été pratiquement impossible de déterminer la DE 50, car pour avoir un pourcentage appréciable de sujets non réfractaires, il eût fallu administrer des doses supérieures à l'infraléthale, donc des doses toxiques et non significatives.

Pour le chlorhydrate de morphine, nous avons obtenu les DE 50 suivantes (essais de référence accomplis sur 350 animaux) :

— 30 minutes après injection : 7,2 (6,0-8,5) mg/kg.

— 30 minutes et 60 minutes après injection : 6,9 (5,7-8,3) mg/kg.

Ces résultats concordent exactement avec ceux indiqués dans la littérature par Bianchi [7].

2° AU MOYEN D'EPREUVES THERMIQUES

Suivant les techniques décrites page 107, nous avons étudié sur la Souris l'action sédative de la morphine, du carquéjol et de ses dérivés.

α) Procédé proportionnel (Température variable).

a) *Essai du chlorhydrate de morphine.*

Différentes doses de chlorhydrate de morphine sont injectées à des lots de 20 souris blanches de même souche.

Le tableau 40 indique les augmentations moyennes de température, supportées 15, 45, 90, 120 minutes après l'injection.

Tableau 40

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve thermique)

CHLORHYDRATE DE MORPHINE (g/kg)	Moyennes en degrés des élévations de température (Temps comptés à partir de l'injection)			
	15 min	45 min	90 min	120 min
0,004	0,5	0	0	0
0,006	3,0	1,8	0,7	0
0,008	5,9	4,5	1,6	0,1
0,010	8,0	6,4	3,8	0,3

b) *Essai du carquéjol.*

Les doses employées sont inférieures à la dose infra-léthale (0,340 g/kg). Aux doses proches de la dose infra-léthale - 0,250 g/kg, par exemple - les animaux sont abattus et semblent être dans l'incapacité de se mouvoir ; essayer de détecter une activité analgésique avec de telles doses est illusoire (essais sur 100 animaux).

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 41.

Tableau 41

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve thermique)

CARQUEJOL (g/kg)	Moyennes en degrés des élévations de température (Temps comptés à partir de l'injection)			
	15 min	45 min	90 min	120 min
0,050	0	0	0	0
0,080	0	0	0	0
0,100	1,4	0	0	0
0,150	2,2	2,2	0,7	0
0,180	4,5	1,5	0,5	0
0,200	5,7	1,6	0,7	0
0,250	Les Souris se laissent brûler les pattes			

L'action analgésique propre du carquéjol est ainsi mise en évidence dès la dose de 0,100 g/kg ; aux doses inférieures (0,080 g/kg), le produit ne possède plus aucune activité analgésique décelable par la méthode suivie.

c) *Essai de l'acétate de carquéjyle.*

Le test thermique n'a révélé aucun pouvoir analgésique propre du dérivé acétylé du carquéjol ; même aux doses de 0,300 g/kg (dose infraléthale : 0,340 g/kg), le pouvoir analgésique est nul. (Essais sur 80 animaux.)

d) *Essai des dihydrocarquéjols.*

Les doses inférieures à 0,100 g/kg se révèlent complètement inefficaces ; dès la dose de 0,100 g/kg, le sujet s'engourdit, et les doses croissantes conduisent à une narcose de courte durée, mais accompagnée et suivie d'une résolution musculaire particulièrement profonde. Le tableau 42 indique les résultats obtenus par l'application du test de Woolfe et Mac Donald ; ces résultats sont sans doute discutables ; on peut se demander si la réaction apparente de l'animal à la douleur, n'est pas amortie, même 15 minutes après l'injection, par son état de torpeur et surtout par son inaptitude à accomplir l'effort musculaire révélateur de la douleur éprouvée. (Essais sur 145 animaux.)

Tableau 42

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve thermique)

DIHYDRO-CARQUEJOLS (g/kg)	Moyennes en degrés des élévations de température (Temps comptés à partir de l'injection)			
	15 min	45 min	90 min	120 min
0,050	0	0	0	0
0,080	0	0	0	0
0,100	1,4	1,5	0,9	0
0,150	2,0	2,7	2,0	1,0
0,180	1,6	3,3	3,0	2,0
0,200	3,0	3,6	2,3	1,5
0,250	3,2	5,0	2,9	2,0

e) *Essai du phénocarquéjol.*

Dans les mêmes conditions expérimentales que précédemment, nous avons obtenu les résultats présentés dans le tableau 43. (Essais sur 120 Souris.)

Tableau 43

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve thermique)

PHENO-CARQUEJOL (g/kg)	Moyennes en degrés des élévations de température (Temps comptés à partir de l'injection)			
	15 min	45 min	90 min	120 min
0,020	0	0	0	0
0,050	0,5	0	0	0
0,080	1,8	0,6	0	0
0,100	1,5	1,4	1,0	0
0,150	4,4	2,8	2,4	0,5
0,180	4,0	3,3	1,3	0,5
0,200	5,3	4,2	2,3	1,0
0,250	4,5	4,7	1,3	0,7

β) Procédé quantal (Température fixe).

Le tableau 44 présente l'ordre de grandeur des DE 50 appréciées, comme il a été dit, par la méthode de Litchfield et Wilcoxon. Nos essais ont porté sur un ensemble de 320 animaux. En ce qui concerne le chlorhydrate de morphine, nos résultats recoupent entièrement ceux rapportés par les divers auteurs qui nous ont précédé (Schaumann [67]).

Tableau 44

(Les résultats sont exprimés en g/kg

Produits	DE 50	Limites de confiance (19/20)
Morphine (chlorhydrate) ..	5,2	4,3 — 6,2
Carquéjol	165	68,5 — 396
Acétate de carquéjyle	—	—
Dihydrocarquéjols	255	159 — 408
Phénocarquéjol	118	51,3 — 271

L'acétate de carquéjyle ne possédant pas d'activité analgésique, il nous a été impossible de calculer la DE 50.

γ) Conclusions.

Le tableau 45 confronte les résultats obtenus avec les différents dérivés orthomenthaniques que nous étudions et avec le chlorhydrate de morphine. (Ensemble d'animaux éprouvés : 530 Souris.)

Tableau 45

Activité analgésique comparée

(Epreuve thermique)

Doses (g/kg)	Produits	Moyennes en degrés des élévations de température (Temps comptés à partir de l'injection)			
		15 min	45 min	90 min	120 min
0,008	Morphine (chlorhydrate)	5,9	4,5	1,6	0,1
0,010	— —	8,0	6,4	3,8	0,3
0,050	Carquéjol	0	0	0	0
	Dihydrocarquéjols ..	0	0	0	0
	Phénocarquéjol	0,5	0	0	0
0,080	Carquéjol	0	0	0	0
	Dihydrocarquéjols ..	0	0	0	0
	Phénocarquéjol	1,8	0,6	0	0
0,100	Carquéjol	1,4	0	0	0
	Dihydrocarquéjols ..	1,4	1,5	0,9	0
	Phénocarquéjol	1,5	1,4	1,0	0
0,150	Carquéjol	2,2	2,2	0,7	0
	Dihydrocarquéjols ..	2,0	2,7	2,0	1,0
	Phénocarquéjol	4,4	2,8	2,4	0,5
0,180	Carquéjol	4,5	1,5	0,5	0
	Dihydrocarquéjols ..	1,6	3,3	3,0	2,0
	Phénocarquéjol	4,0	3,3	1,3	0,5
0,200	Carquéjol	5,7	1,6	0,7	0
	Dihydrocarquéjols ..	3,0	3,6	2,3	1,5
	Phénocarquéjol	5,3	4,2	2,3	1,0
0,250	Carquéjol	Les Souris se laissent brûler les pattes			
	Dihydrocarquéjols ..	3,2	5,0	2,9	2,0
	Phénocarquéjol	4,5	4,7	1,3	0,5

La puissance analgésique, déterminée d'après la méthode de Truchaut, par planimétrie, conduit aux résultats présentés dans le tableau 46.

Tableau 46

Puissance analgésique comparée

(Epreuve thermique)

Produits administrés en g/kg		Aires analgésiques	
		mesurées en millimètres carrés	rapportées au chlorhydrate de morphine 0,010 g/kg
Chlorhydrate de morphine :			
	0,006	1 060	—
	0,010	3 740	1,00
Carquéjol :			
	0,100	220	0,06
	0,150	1 050	0,28
	0,200	1 440	0,38
Dihydrocarquéjols :			
	0,100	740	0,20
	0,150	1 490	0,40
	0,200	1 900	0,51
Phénocarquéjol :			
	0,100	690	0,18
	0,150	1 710	0,46
	0,200	2 140	0,57

L'aire analgésique moyenne obtenue avec 10 mg/kg de chlorhydrate de morphine est 3,5 fois supérieure à celle déterminée par 6 mg/kg de ce même produit ; ce résultat est en harmonie avec le fait qu'à la plus faible dose, certains animaux ne sont pas sensibles à l'action de la morphine, tandis qu'au contraire, à la dose supérieure, tous les animaux traités sont analgésiés.

La DE 50 (5,2 mg/kg) donnée par le procédé quantal confirme ces résultats.

Les résultats expérimentaux obtenus peuvent être résumés de la façon suivante :

1° Le classement des substances étudiées d'après leur effet analgésique décroissant, est le suivant :

phénocarquéjol>dihydrocarquéjols

>carquéjol>acétate de carquéjyle.

L'acétate de carquéjyle ne présente aucun effet analgésique, dans les mêmes conditions expérimentales. Une réserve doit être faite en ce qui concerne l'interprétation des résultats obtenus avec les dihydrocarquéjols, qui conduisent à une résolution musculaire telle que le sujet éprouvé ne peut plus se mouvoir qu'avec difficulté, ce qui rend malaisée l'interprétation des tests basés sur une réponse mécanique.

2° L'analgésie déterminée par l'administration de phénocarquéjol et de dihydrocarquéjols est plus prolongée que celle déterminée par l'injection de carquéjol.

3° Le temps d'action maximum, délai qui sépare le moment de l'administration du produit, du moment où l'analgésie parvient à un maximum d'intensité, est nettement plus court après injection de phénocarquéjol.

4° Les résultats obtenus avec les procédés quantal et proportionnel sont sensiblement équivalents ; toutefois, l'action analgésique du mélange des dihydrocarquéjols est moins puissante par l'épreuve thermique à température fixe ; malgré leur état de torpeur, les Souris traitées par ce produit répondent plus nettement à ce stimulus intense.

3° AU MOYEN D'EPREUVES ELECTRIQUES

L'excitation de la pulpe dentaire du Lapin nous a donné les résultats suivants :

α) Procédé proportionnel [16].

a) *Essai du chlorhydrate de morphine.*

Pour ce test, comme pour les précédents, nous avons pris, comme produit de référence, le chlorhydrate de morphine. Ce produit est administré par voie intrapéritonéale, et à intervalles réguliers - toutes les dix minutes - on détermine le voltage-seuil.

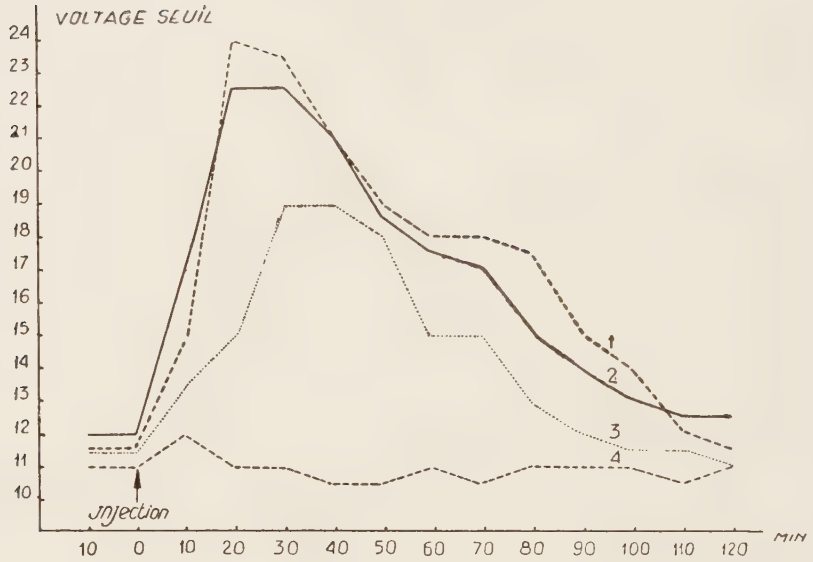
Les résultats rapportés dans les tableaux suivants correspondent pour des doses croissantes à la moyenne des valeurs obtenues avec au moins cinq, généralement sept à huit Lapins.

Tableau 47

Mesure de l'analgésie

(Epreuve électrique)

Temps en minutes	Doses de chlorhydrate de morphine administrées en g/kg			
	0,005	0,010	0,015	0,018
	voltage - seuil			
— 10	11,0	11,5	12,0	11,5
0				
10	12,0	13,5	17,0	15,0
20	11,0	15,0	22,5	24,0
30	11,0	19,0	22,5	23,5
40	10,5	19,0	21,0	21,0
50	10,0	18,0	18,5	19,0
60	11,0	15,0	17,5	18,0
70	10,5	15,0	17,0	18,0
80	11,0	13,0	15,0	17,5
90	11,0	12,0	14,0	15,0
100	11,0	11,0	13,0	14,0
110	10,5	11,5	12,5	12,0
120	11,0	11,0	12,5	11,5



GRAPHIQUE 15

Mesure de l'analgésie

(Stimulation de la pulpe dentaire du Lapin)

— courbe 1 : Morphine (chlorhydrate) 0,018 g/kg
— courbe 2 : Morphine (chlorhydrate) 0,015 g/kg
— courbe 3 : Morphine (chlorhydrate) 0,010 g/kg
— courbe 4 : Morphine (chlorhydrate) 0,005 g/kg

Cette technique confirme bien que la morphine, dès la dose de 0,010 g kg, est un puissant analgésique, son action se prolongeant pendant 80 minutes ; à la dose de 0,015 g kg, le voltage-seuil s'élève de 10 volts en 20 minutes, et l'activité analgésique est encore positive 100 minutes après l'injection (tableau 47 et graphique 15).

b) *Essai du carquéjol.*

En solution à 5 % dans l'huile d'olive neutralisée, le carquéjol est administré par voie intrapéritonéale aux doses de 0,050 g kg - 0,100 g kg - 0,150 g kg et 0,200 g kg. Les Lapins supportent très bien ces deux dernières doses sans signe de narcose.

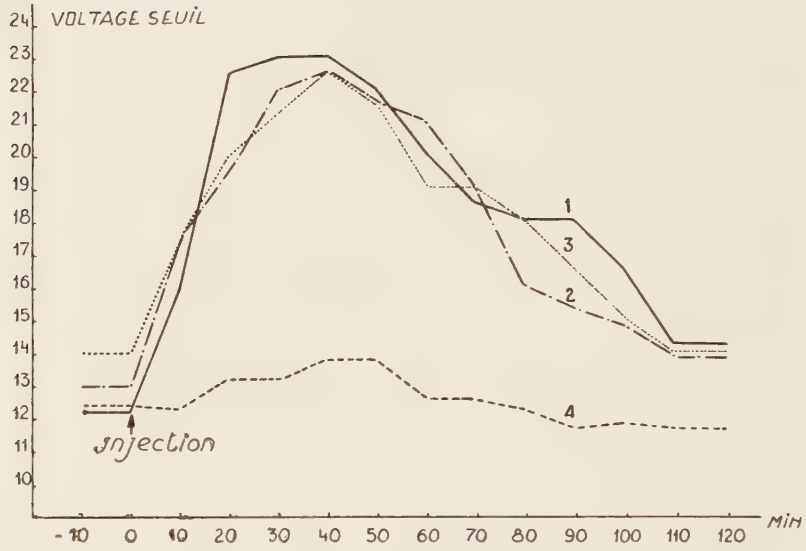
Le tableau 48 et le graphique 16 présentent les résultats obtenus.

Tableau 48

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve électrique)

Temps en minutes	Doses de carquéjol administrées en g/kg			
	0,050	0,100	0,150	0,200
	voltage - seuil			
— 10	12,3	14,0	13,0	12,2
0				
10	12,3	17,5	17,5	16,0
20	13,2	20,0	19,5	22,5
30	13,2	21,3	22,0	23,0
40	13,8	21,5	22,5	23,0
50	13,8	21,5	21,5	22,0
60	12,6	19,0	21,0	20,0
70	12,6	19,0	19,0	18,5
80	12,3	18,0	16,0	18,0
90	11,7	16,5	15,3	18,0
100	11,9	15,0	14,8	16,5
110	11,7	14,0	13,7	14,2
120	11,7	14,0	13,7	14,2



GRAPHIQUE 16

Mesure de l'analgésie

(Stimulation de la pulpe dentaire du Lapin)

— courbe 1 : Carquéjol 0,200 g/kg
— courbe 2 : Carquéjol 0,150 g/kg
— courbe 3 : Carquéjol 0,100 g/kg
— courbe 4 : Carquéjol 0,050 g/kg

c) *Essai de l'acétate de carquéjyle.*

Comme l'a montré le test thermique, l'acétate de carquéjyle ne possède pas d'activité analgésique qui lui soit propre (tableau 49) ; le test électrique confirme cette donnée.

Tableau 49

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve électrique)

Temps en minutes	Doses d'acétate de carquéjyle administrées en g/kg		
	0,050	0,150	0,250
	voltage - seuil		
— 10	12,0	12,5	12,3
0			
10	13,0	13,6	12,9
20	13,0	13,4	13,8
30	12,5	12,8	13,1
40	12,0	12,5	12,8
50	12,0	12,5	12,5
60	12,5	12,5	12,5
70	12,0	12,5	12,5
80	12,0	12,5	12,3
90	11,5	12,5	12,1

d) *Essai des dihydrocarquéjols :*

Le pouvoir analgésique de ce produit, déterminé par l'excitation électrique, est faible, presque inexistant ; aux doses de 0,050 g — 0,100 g/kg et 0,150 g/kg, le voltage-seuil reste à peu près constant pendant toute la durée de l'expérimentation. A la dose de 0,200 g/kg, 20 minutes après l'injection, une légère narcose apparaît, les Lapins tombent en décubitus latéral, le réflexe de redressement restant positif ; durant les 60 minutes que dure cette narcose, le voltage-seuil s'élève au maximum de 1,5 volts. Aux doses supérieures à 0,250 g/kg, la narcose est de plus en plus profonde, la résolution musculaire presque complète ; à la dose de 0,350 g/kg, la narcose dure plus de deux heures.

Pendant une heure environ, les Lapins traités, à ces doses, ne manifestent aucune réaction douloureuse et il faut augmenter le voltage jusqu'à 30 et même 40 volts. pour qu'apparaissent les premières réactions de l'animal.

Le tableau 50 nous présente ces résultats.

Tableau 50

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve électrique)

Temps en minutes	Doses de dihydrocarquéjols administrées en g/kg			
	0,150	0,200	0,300	0,350*
	voltage - seuil			
— 10	10,0	11,0	11,0	10,5
0				
10	10,5	11,0	14,0	40
20	10,5	12,3	> 30	40
30	10,0	11,5	> 30	40
40	10,4	11,8	> 30	40
50	10,2	11,9	> 30	40
60	10,0	11,6	14,5	30
70	10,4	12,5	12,8	14,8
80	10,0	12,4	11,5	15,0
90	10,0	11,8	11,0	14,5
100	10,0	11,5	11,0	15,0
110	10,0	11,2	11,0	14,0
120	10,0	11,2	11,0	13,5

Légère narcose

narcose résolution musculaire

narcose

résolution musculaire

: A cette dose (0,350 g/kg), 3 Lapins sur 7 sont morts entre 24 et 48 heures après l'injection.

e) *Essai du phénocarquéjol :*

Administré aux mêmes doses que le carquéjol, le dérivé phénolé a donné les résultats présentés dans le tableau 51 et le graphique 17.

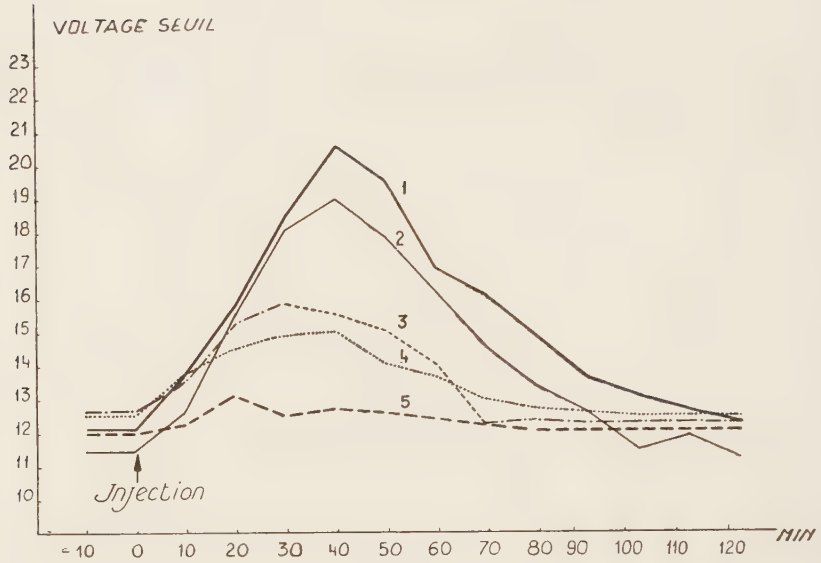
Tableau 51

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve électrique)

Temps en minutes	Doses de phénocarquéjol administrées en g/kg				
	0,050	0,100	0,150	0,200	0,250
	voltage - seuil				
— 10	12,0	12,5	12,5	11,4	12,1
0					
10	12,3	13,7	13,5	12,6	13,7
20	13,1	14,5	15,2	15,5	15,8
30	12,5	14,9	15,8	18,0	18,5
40	12,7	15,0	15,5	18,9	20,5
50	12,6	14,0	15,0	17,8	19,5
60	12,4	13,6	14,0	16,1	16,8
70	12,2	12,9	12,2	14,4	16,6
80	12,0	12,6	12,3	13,3	14,8
90	12,0	12,5	12,2	12,5	13,5
100	12,0	12,4	12,2	11,4	13,0
110	12,0	12,4	12,2	11,8	12,6
120	12,0	12,4	12,2	11,1	12,2

Ces résultats sont comparables à ceux obtenus avec le carquéjol, l'activité analgésique étant toutefois plus atténuée.



GRAPHIQUE 17

Mesure de l'analgésie

(Stimulation de la pulpe dentaire du Lapin)

— courbe 1 : Phénocarquéjol 0,250 g/kg
– courbe 2 : Phénocarquéjol 0,200 g/kg
— courbe 3 : Phénocarquéjol 0,150 g/kg
— courbe 4 : Phénocarquéjol 0,100 g/kg
— courbe 5 : Phénocarquéjol 0,050 g/kg

β) PROCÉDÉ QUANTAL :

La détermination de la DE 50 calculée suivant les modalités précédemment décrites, conduit aux résultats suivants :

Tableau 52

(Les résultats sont exprimés en mg/kg)

Produits	n	DE 50	Limite de confiance (19/20)
Morphine (chlorhydrate)	24	5,4	3,3 — 6,5
Carquéjol	21	85	63 — 110
Acétate de carquéjyle	15	—	—
Dihydrocarquéjols	15	—	—
Phénocarquéjol	21	96	67 — 125

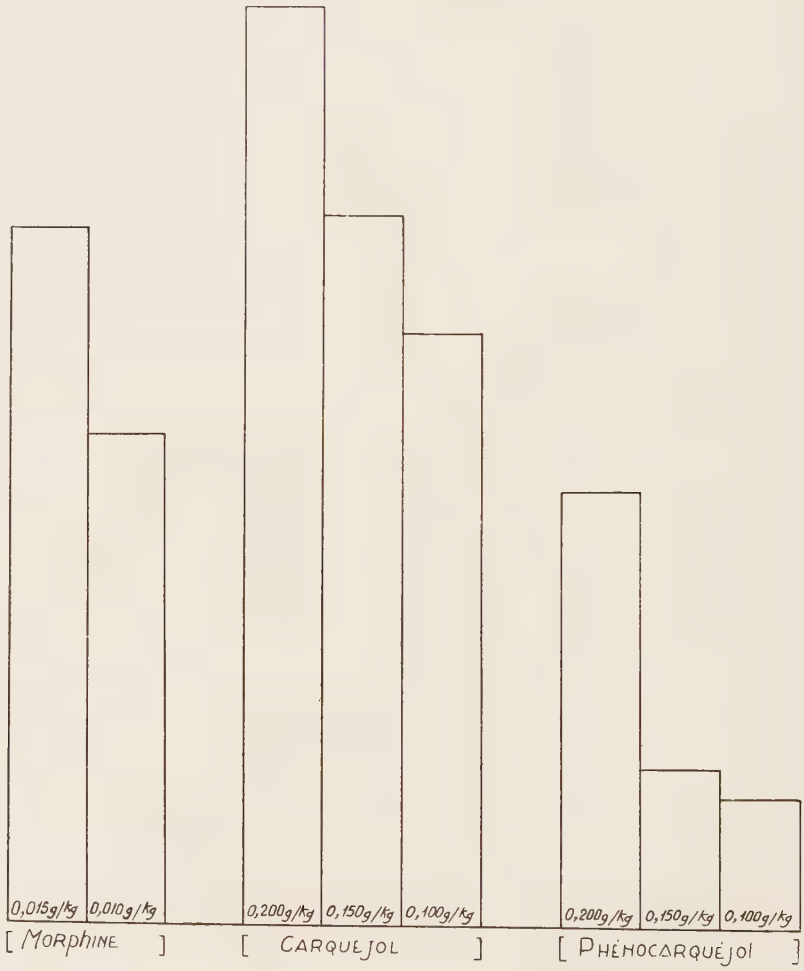
n : Nombre d'animaux.

γ) Conclusions :

Le test électrique met en évidence une très forte activité analgésique du carquéjol et du phénocarquéjol ; contrairement aux résultats donnés par les épreuves mécanique et thermique, le carquéjol exerce des effets plus puissants que son dérivé phénolé. Le tableau 53 et le graphique 18 en rendent compte.

Tableau 53

Produits administrés en g/kg		Aires analgésiques	
		mesurées en millimètres carrés	rapportées au chlorhydrate de morphine 0,015 g/kg
Chlorhydrate de morphine	0,010	6 210	—
	0,015	8 840	1,00
Carquéjol	0,100	7 450	0,83
	0,150	8 940	1,01
	0,200	11 600	1,31
Phénocarquéjol .	0,100	1 640	0,19
	0,150	1 980	0,22
	0,200	5 460	0,60



GRAPHIQUE 18

Puissance analgésique comparée

(Epreuve électrique)

4° DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats que nous avons obtenus mettent bien en valeur la nécessité de faire des mesures d'analgésie en utilisant des espèces animales différentes, et surtout des tests dont les stimuli et les douleurs sont différents.

On remarquera que le test à la sensibilité des ramifications nerveuses de la dent révèle nettement, une action analgésique propre du carquéjol et du phénocarquéjol ; or, le test thermique seul avait révélé cette activité spécifique, que le test mécanique, par abolition de la douleur au pincement de la queue de la Souris, n'avait pas fait apparaître.

L'acétate de carquéjyle ne possède pas d'activité analgésique qui lui soit propre. Les dihydrocarquéjols n'exercent une action marquée qu'aux doses où s'installe un coma narcotique (la mesure de l'analgésie devient alors aléatoire).

Les résultats rapportés dans le tableau 54 présentent les valeurs des DE 50 obtenues par les trois tests.

Tableau 54

(Les résultats sont exprimés en mg/kg)

Produits	Valeur de la DE 50		
	Epreuve mécanique	Epreuve thermique	Epreuve électrique
Morphine (chlorhydrate)	6,9 (5,7 — 8,3)	5,2 (4,3 — 6,2)	5,4 (3,3 — 6,5)
Carquéjol	—	165 (68,5 — 395)	85 (63 — 110)
Acétate de carquéjyle	—	—	—
Dihydrocarquéjols	—	255 (159 — 408)	—
Phénocarquéjol	—	118 (51,3 — 271)	96 (67 — 125)

III - Potentialisation du pouvoir analgésique central de la codéine

Après avoir étudié l'effet analgésique du produit administré seul, nous envisageons l'action du produit associé à un sédatif central, la codéine, à des doses qui, administrées seules, ne produisent aucun effet. La codéine est utilisée sous forme de chlorhydrate.

Tous les produits sont administrés par la voie intrapéritonéale ; l'injection du carquéjol ou de ses dérivés précède de 5 minutes celle de la codéine.

Nous avons adopté le même plan que précédemment, comparant l'effet des 4 produits suivant les méthodes envisagées.

1° EPREUVE MECANIQUE

α) Procédé proportionnel :

Nous avons vu que la technique de Haffner ne révèle aucune activité analgésique du carquéjol et de ses dérivés.

Les résultats obtenus en associant ces produits à la codéine (0,010 g/kg) sont présentés dans le tableau 55.

Les sujets éprouvés répondent à la douleur par une réaction franche ; il n'y a pas de narcose [13, 16].

Tableau 55

POTENTIALISATION DU POUVOIR ANALGÉSIQUE CENTRAL DE LA CODÉINE

(Epreuve mécanique)

Produits administrés en g/kg	Durée moyenne en min. de l'analgésie complète	Pourcentage de sujets réfractaires
Morphine (chlorhydrate) 0,010	85	10
Codéine (chlorhydrate) 0,010	0	100
Carquéjol 0,250	0	100
Carquéjol 0,100 + codéine 0,010	45	0
— 0,150 + — 0,010	54	0
— 0,200 + — 0,010	111	0
— 0,250 + — 0,010	177	0
Phénocarquéjol 0,250	0	100
— 0,150 + codéine 0,010	15	80
— 0,200 + codéine 0,010	75	20
Dihydrocarquéjols 0,250	0	100
— 0,150 + codéine 0,010	10	80
— 0,200 + codéine 0,010	60	40
Acétate de carquéjyle 0,350	0	100
— — 0,250 + codéine 0,010	5	80
— — 0,350 + codéine 0,010	44	30

Ces résultats mettent en lumière l'intensité et la durée du pouvoir renforçateur du carquéjol à l'égard des effets analgésiques de la codéine ; seul, le carquéjol — aux doses égales ou supérieures à 0,100 g/kg — associé à la codéine (0,010 g kg), protège 100 % des sujets contre la douleur provoquée par la pression mécanique de la queue.

La durée de l'analgésie est comparable ou même supérieure à celle que détermine l'administration intrapéritonéale de 0,010 g/kg de morphine.

Les dérivés du carquéjol associés à la codéine (0,010 g/kg) provoquent chez les sujets non réfractaires, une analgésie de durée beaucoup plus réduite.

Ces résultats sont confirmés par les déterminations de la dose efficace 50.

β) Procédé quantal :

Alors qu'il était impossible de déterminer la DE 50 du carquéjol et de ses dérivés administrés seuls, cette détermination devient significative si l'on associe ces produits à 0,010 g/kg de chlorhydrate de codéine (à cette dose de codéine, aucun animal sur 30 traités ne fut considéré comme analgésié). Seul l'acétate de carquéjyle s'avère impuissant à renforcer le pouvoir analgésique de la codéine.

Tableau 56

(Les résultats sont exprimés en mg/kg)

Produits	n	DE 50	Limites de confiance (19/20)
Morphine (chlorhydrate)	50	6,9	5,7 — 8,3
Codéine (chlorhydrate)	50	42,5	24,5 — 73,5
Codéine + 0,010 g/kg : carquéjol	50	235	191 — 289
Codéine + 0,010 g/kg : acétate de carquéjyle .	30	—	—
Codéine + 0,010 g/kg : dihydrocarquéjols	40	163	131 — 202
Codéine + 0,010 g/kg : phénocarquéjol	50	224	188 — 267

n : Nombre d'animaux.

2° EPREUVE THERMIQUE

α) Procédé proportionnel (température variable) :

a) *Essai de la codéine :*

Nous avons essayé de mettre en évidence une activité analgésique du chlorhydrate de codéine, administré aux doses de 0,008 g/kg et 0,010 g/kg.

Les moyennes des augmentations de température supportées, après administration de codéine, par voie intrapéritonéale, sont indiquées dans le tableau 57. Le chlorhydrate de codéine, à la dose de 0,010 g kg, ne possède qu'une très faible et très brève activité analgésique (essais sur 20 Souris).

Les résultats qui suivent, vont montrer que les dérivés orthomenthaniques naturels que nous étudions, ont un effet renforçateur et même potentialisateur de ce pouvoir analgésique de la codéine.

b) *Association codéine-carquéjol :*

Le tableau 57 présente les résultats que nous avons obtenus en associant le carquéjol à des doses inférieures à 0,100 g/kg, au chlorhydrate de codéine aux doses de 0,008 g kg et 0,010 g kg [13]. Les essais ont porté sur 288 animaux.

Tableau 57

POTENTIALISATION DU POUVOIR ANALGÉSIQUE CENTRAL DE LA CODÉINE

(Epreuve thermique)

Produits administrés en g/kg		Moyennes en degrés des élévations de T° (Temps comptés à partir de l'injection)			
Carquéjol	Codéine	15 min	45 min	90 min	120 min
—	0,010	0,9	0	0	0
0,100	—	1,4	0	0	0
0,005	0,010	0	0	0	0
0,008	0,010	3,9	0,5	0	0
0,010	0,010	4,6	1,6	0	0
0,020	0,010	4,8	2,0	0	0
0,030	0,010	5,9	3,7	0	0
0,050	0,010	5,7	2,6	2,5	0,15
0,080	0,010	7,3	5,2	1,6	0,3
0,100	0,010				
—	0,008	0	0	0	0
0,080	—	0	0	0	0
0,008	0,008	0	0	0	0
0,010	0,008	0	0	0	0
0,030	0,008	2,4	1,1	0	0
0,050	0,008	3,1	0,3	0,6	0,2
0,080	0,008	6,4	1,9	1,5	0,5

Le tableau 57 met en évidence l'influence activatrice du carquéjol sur le pouvoir central de la codéine ; cette influence puissante du carquéjol ne dépasse-t-elle pas le stade de la synergie renforçatrice banale. pour atteindre celui de la potentialisation vraie ?

c) *Association codéine-acétate de carquéjyle :*

Nous avons vu que l'acétate de carquéjyle ne possédait aucune activité sédative. Associé à la codéine, les résultats ne sont guère satisfaisants [17] (essais sur 55 animaux).

Tableau 58

RENFORCEMENT DU POUVOIR ANALGÉSIQUE CENTRAL DE LA CODÉINE

(Epreuve thermique)

Produits administrés en g/kg		Moyennes en degrés des élévations de T° (Temps comptés à partir de l'injection)			
Acétate de carquéjyle	Codéine	15 min	45 min	90 min	120 min
—	0,010	0,9	0	0	0
0,300	—	0	0	0	0
0,200	0,010	1,2	0	0	0
0,250	0,010	0	0,5	0	0

d) *Association codéine-dihydrocarquéjols* :

Les résultats sont résumés dans le tableau 59 (essais portant sur 60 Souris).

Tableau 59

POTENTIALISATION DU POUVOIR ANALGÉSIQUE CENTRAL DE LA CODÉINE

(Epreuve thermique)

Produits administrés en g/kg		Moyennes en degrés des élévations de T° (Temps comptés à partir de l'injection)			
Dihydro-carquéjols	Codéine	15 min	45 min	90 min	120 min
—	0,010	0,9	0	0	0
0,100	—	1,4	1,5	0,9	0
0,020	0,010	0,7	0	0	0
0,050	0,010	0,6	1,2	0,5	0
0,100	0,010	1,5	2,0	2,0	1,0

e) *Association codéine-phénocarquéjol :*

Cette association a été faite avec des doses de codéine et de phénocarquéjol qui, employées seules, sont inactives (essais sur 60 animaux).

Le tableau 60 résume les résultats obtenus.

Tableau 60

POTENTIALISATION DU POUVOIR ANALGÉSIQUE CENTRAL DE LA CODÉINE

(Epreuve thermique)

Produits administrés en g/kg		Moyennes en degrés des élévations de T° (Temps comptés à partir de l'injection)			
Phéno-carquéjol	Codéine	15 min	45 min	90 min	120 min
—	0,010	0,9	0	0	0
0,050	—	0,5	0	0	0
0,010	0,010	1,0	0,3	0	0
0,020	0,010	1,2	2,0	0,4	0
0,050	0,010	5,2	2,2	2,0	1,0

β) PROCÉDÉ QUANTAL (température fixe) :

Les résultats confirment les précédents : le carquéjol s'avère être, par l'épreuve thermique, un puissant renforçateur du pouvoir analgésique de la codéine.

Tableau 61

(Les résultats sont exprimés en mg/kg)

Produits	n	DE 50	Limites de confiance (19/20)
Morphine (chlorhydrate)	90	5,2	4,3 — 6,2
Codéine (chlorhydrate)	50	21,0	17,5 — 25,2
Codéine + 0,010 g/kg carquéjol	50	48,5	24,2 — 98,0
Codéine + 0,010 g/kg acétate de carquéjyle .	30	—	—
Codéine + 0,010 g/kg dihydrocarquéjols	40	64,5	32,3 — 129
Codéine + 0,010 g/kg phénocarquéjol	50	58,5	40,3 — 84,8

n : Nombre d'animaux.

γ) Conclusion :

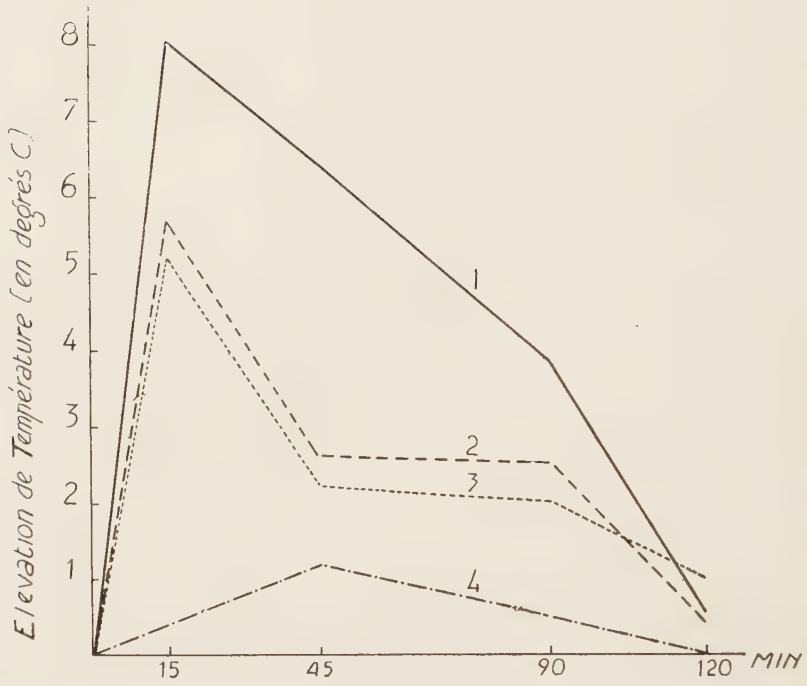
L'épreuve thermique apporte une preuve supplémentaire du renforcement du pouvoir analgésique du chlorhydrate de codéine. De très faibles doses de dérivés orthomenthaniques (0,010 g/kg) agissent même en potentialisation (tableaux 61 et 62).

Activité comparée

Potentialisation du pouvoir analgésique central de la codéine

(Epreuve thermique)

Produits administrés en g/kg		Moyennes en degrés des élévations de T° (Temps comptés à partir de l'injection)			
		15 min	45 min	90 min	120 min
Morphine	0,010	8,0	6,4	3,8	0,3
Codéine	0,010	0,9	0	0	0
Carquéjol	0,010 +	4,6	1,6	0	0
Dihydrocarquéjols	codéine	0,6	0	0	0
Phénocarquéjol	0,010	1,0	0,3	0	0
Carquéjol	0,020 +	4,8	2,0	0	0
Dihydrocarquéjols	codéine	0,7	0	0	0
Phénocarquéjol	0,010	1,2	2,0	0,4	0
Carquéjol	0,050 +	5,7	2,6	2,5	0,15
Dihydrocarquéjols	codéine	0,1	1,2	0,5	0
Phénocarquéjol	0,010	5,2	2,2	2,0	1,0
Carquéjol	0,100	7,0	4,2	3,1	1,6
Dihydrocarquéjols	codéine	1,5	2,0	2,0	1,0
Phénocarquéjol	0,010	6,8	5,0	3,4	1,9



GRAPHIQUE 19
Mesure de l'analgésie
(Epreuve thermique)

— courbe 1 : Morphine (chlorhydrate)	0,010 g/kg	
— courbe 2 : Carquéjol	0,050 g/kg	+ codéine
— courbe 3 : Phénocarquéjol	0,050 g/kg	0,010 g/kg
— courbe 4 : Dihydrocarquéjols	0,050 g/kg	

Sur le graphique 19, illustrant la variation de l'intensité de l'action analgésique exprimée en degrés centigrades, en fonction du temps pour une dose donnée, quatre courbes délimitent, avec l'axe des abscisses, des surfaces. Nous avons ainsi déterminé comme précédemment, la puissance analgésique du carquéjol, des dihydrocarquéjols et du phénocarquéjol associés à la codéine.

Les valeurs des « aires analgésiques », exprimées en millimètres carrés, sont portées dans le tableau 63.

Tableau 63

Produits administrés en g/kg			Aires analgésiques	
			mesurées en millimètres carrés	rapportées au chlorhydrate de morphine 0,010 mg/kg
Morphine	0,010		3 740	1,00
Carquéjol	0,050	+ codéine 0,010	2 130	0,57
Dihydrocarquéjols	0,050	+ codéine 0,010	470	0,12
Phénocarquéjol	0,050	+ codéine 0,010	1 910	0,51

Ainsi cette technique d'excitation thermique, a mis en valeur le pouvoir potentialisateur du carquéjol, des dihydrocarquéjols et du phénocarquéjol, vis-à-vis de la codéine.

A la dose de 0,010 g/kg, le chlorhydrate de codéine n'a aucune activité analgésique ; associé à 0,150 g/kg de carquéjol, sa puissance atteint 57 % de celle du chlorhydrate de morphine ; associé aux mêmes doses de dihydrocarquéjols et de phénocarquéjol, sa puissance atteint aussi respectivement 51 % et 12 % de celle du chlorhydrate de morphine.

La réalisation d'un troisième test va nous permettre de compléter ces résultats.

3° EPREUVE ELECTRIQUE

a) *Essai de la codéine :*

Le chlorhydrate de codéine mis en solution dans du sérum physiologique, est injecté par voie intrapéritonéale. Le tableau 64 et le graphique 20 montrent que la codéine n'a

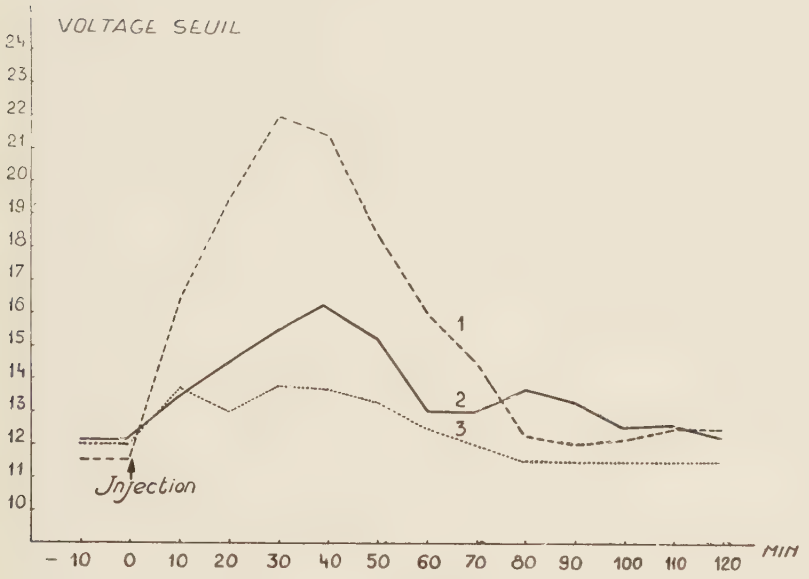
pas encore d'action analgésique très nette à la dose de 0,015 g/kg ; à 0,020 g/kg, l'action est maximum 40 minutes après l'injection avec une élévation du seuil de 4 volts ; la dose de 0,025 g/kg nous a paru forte pour les Lapins : en effet, sur 7 Lapins éprouvés, un animal eut une paralysie du train postérieur 60 minutes après l'injection, et une paralysie semblable apparaît le lendemain de l'expérimentation chez deux autres animaux ; ces 3 animaux ne survécurent d'ailleurs pas ; à cette dose, les autres Lapins sont dans un état léthargique et récupèrent vers la 70e minute après l'injection, temps qui correspond à la fin de l'analgésie.

Tableau 64

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve électrique)

Temps en minutes	Doses de chlorhydrate de codéine administrées en g/kg		
	0,015	0,020	0,025
	voltage - seuil		
— 10	12,0	12,0	11,5
— 0			
10	13,7	13,5	16,5
20	13,0	14,5	19,5
30	13,8	15,5	22,0
40	13,7	16,3	21,5
50	13,3	15,2	18,5
60	12,5	13,0	16,0
70	12,0	13,0	14,6
80	11,5	13,7	12,5
90	11,5	13,3	12,0
100	11,5	12,5	12,2
110	11,5	12,6	12,5
120	11,5	12,2	12,5



Graphique 20

Mesure de l'analgésie
(Stimulation de la pulpe dentaire du Lapin)

— courbe 1 : Codéine (chlorhydrate) 0,025 g/kg
— courbe 2 : Codéine (chlorhydrate) 0,020 g/kg
— courbe 3 : Codéine (chlorhydrate) 0,015 g/kg

b) *Association codéine-carquéjol :*

Nous avons adopté une dose de 0,015 g kg de chlorhydrate de codéine pour la suite de nos essais sur le Lapin, dose ne déterminant qu'une analgésie légère et fugace (tableau 65).

Le chlorhydrate de codéine en solution dans du sérum physiologique est injecté par voie intrapéritonéale 5 minutes après l'administration du produit étudié.

Le carquéjol injecté seul à la dose de 0,050 g kg ne possède pas d'action analgésique décelable par cette méthode (tableau 65).

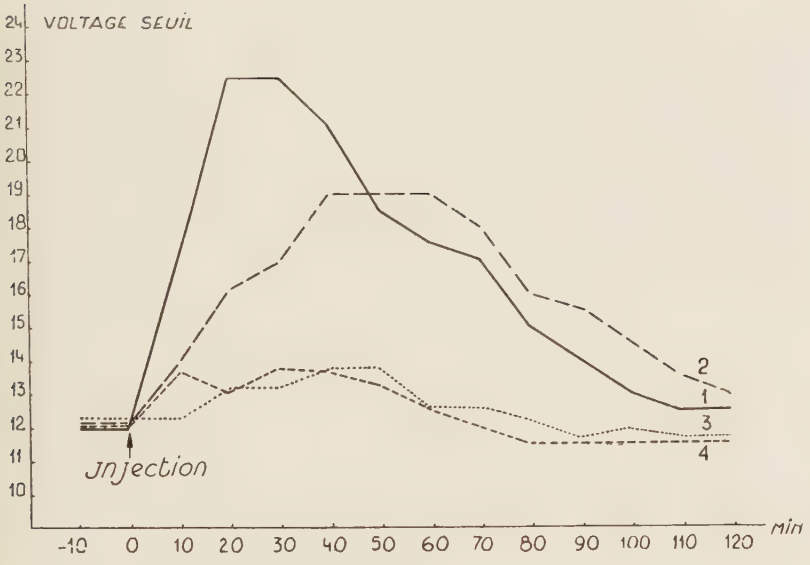
L'activité analgésique de cette association (carquéjol 0,050 g/kg + codéine 0,015 g/kg) est très marquée ; le tableau 65 et le graphique 21 mettent en lumière l'intense pouvoir d'exaltation qu'exerce le carquéjol sur l'activité analgésique centrale de la codéine.

Tableau 65

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve électrique)

Temps en min	Codéine (chlorhydrate) 0,015 g/kg	Carquéjol 0,050 g/kg	Codéine-carquéjol 0,015 g/kg-0,050 g/kg	Morphine (chlorhydrate) 0,015 g/kg
	voltage - seuil			
— 10	12,0	12,3	12,0	12,0
0				
10	13,7	12,3	14,0	17,0
20	13,0	13,2	16,2	22,5
30	13,8	13,2	17,0	22,5
40	13,7	13,8	19,0	21,0
50	13,3	13,8	19,0	18,5
60	12,5	12,6	19,0	17,5
70	12,0	12,6	18,0	17,0
80	11,5	12,3	16,0	15,0
90	11,5	11,7	15,6	14,0
100	11,5	11,9	14,5	13,0
110	11,5	11,7	13,5	12,5
120	11,5	11,7	13,0	12,5



Graphique 21

Pouvoir analgésique comparé

(Stimulation de la pulpe dentaire du Lapin)

— courbe 1 : Morphine .. .. 0,015 g/kg
— courbe 2 : Codéine .. .. 0,015 g/kg + carquéjol 0,050 g/kg
— courbe 3 : Carquéjol .. .. .. 0,050 g/kg
— courbe 4 : Codéine .. .. 0,015 g/kg

c) *Association codéine-acétate de carquéjyle :*

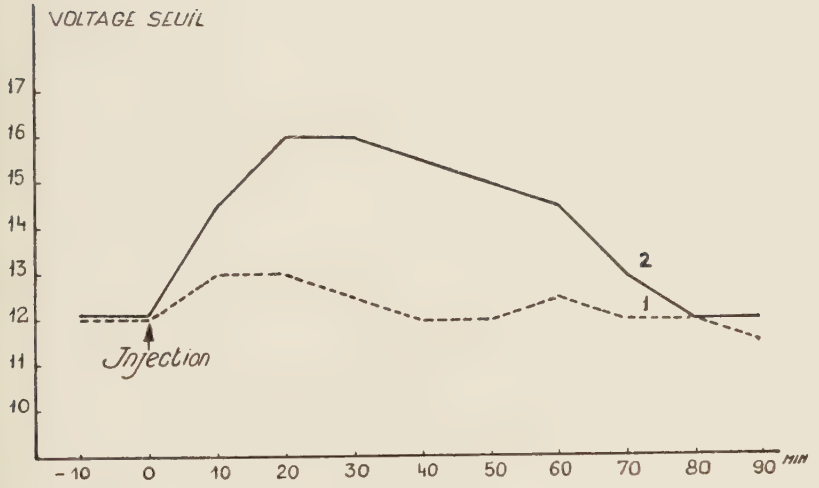
Le tableau 66 démontre que le dérivé acétylé du carquéjol ne possède aucune activité analgésique décelable par la méthode de la stimulation de la pulpe dentaire du Lapin. Nous avons associé une faible dose d'acétate de carquéjyle (0,050 g/kg) à la codéine ; les résultats obtenus furent très irréguliers ; sur 7 Lapins traités, 4 nous ont donné des résultats positifs ; dans le tableau 66 nous donnons la moyenne des voltages-seuils obtenus avec ces 4 Lapins.

Tableau 66

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve électrique)

Temps en minutes	Acétate de carquéjyle 0,050 g/kg	Acétate de carquéjyle 0,050 g/kg + Codéine (chlorhydrate) 0,015 g/kg
	voltage - seuil	
— 10	12,0	12,0
0		
10	13,0	14,5
20	13,0	16,0
30	12,5	16,0
40	12,0	15,5
50	12,0	15,0
60	12,5	14,5
70	12,0	13,0
80	12,0	12,0
90	11,5	12,0
100	11,5	12,5
110	12,0	12,0
120	12,0	12,5



GRAPHIQUE 22

Mesure de l'analgésie

(Stimulation de la pulpe dentaire du Lapin)

— courbe 1 : Acétate de carquéjyle 0,050 g/kg

— courbe 2 : Acétate de carquéjyle 0,050 g/kg + codéine 0,015 g/kg

d) *Association codéine-dihydrocarquéjols :*

Les dihydrocarquéjols possèdent un effet renforçateur vis-à-vis de la codéine, beaucoup plus faible que le carquéjol et son phénol.

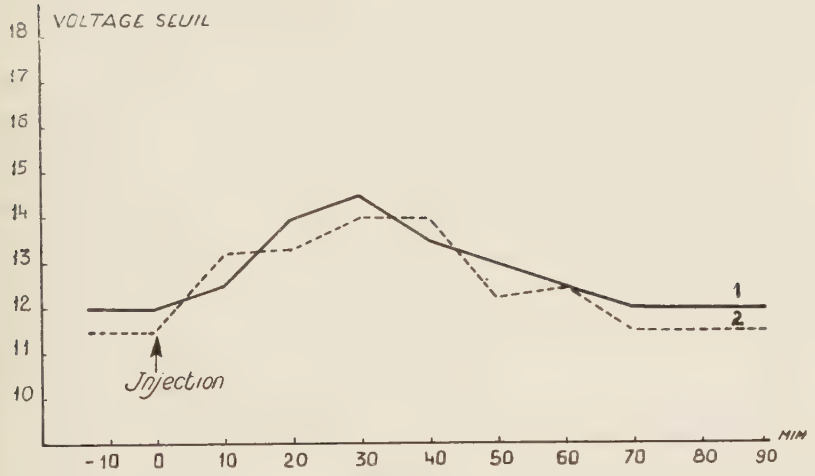
Le test de la stimulation de la pulpe dentaire du Lapin ne révèle aucune action analgésique avec des doses de 0,050 et 0,150 g/kg de dihydrocarquéjols ; associé à la codéine dans les mêmes conditions expérimentales que celles employées précédemment, nous avons obtenu les résultats suivants (tableau 67).

Tableau 67

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve électrique)

Temps en minutes	Chlorhydrate de codéine 0,015 g/kg associé avec :	
	Dihydrocarquéjols 0,050 g/kg	Dihydrocarquéjols 0,150 g/kg
	voltage - seuil	
— 10	11,5	12,0
0		
10	13,2	12,5
20	13,3	14,0
30	14,0	13,5
40	14,0	13,5
50	12,2	13,0
60	12,5	12,5
70	11,5	12,0
80	11,5	12,0
90	11,5	12,0



Graphique 23
Mesure de l'analgésie
(Stimulation de la pulpe dentaire du Lapin)

courbe 1 : Codéine (chlorhydrate) 0,015 g/kg + dihydrocarquéjols 0,150 g/kg
courbe 2 : Codéine (chlorhydrate) 0,015 g/kg + dihydrocarquéjols 0,050 g/kg

Nous pouvons donc déduire que quelle que soit la dose de dihydrocarquéjols associée à la codéine, l'action analgésique est faible et à peu près semblable. Nous avons associé la codéine à des doses supérieures à 0,150 g/kg de dihydrocarquéjols : la narcose et la « résolution musculaire » qui frappent les animaux empêchent toute mesure objective de l'analgésie.

e) *Association codéine-phénocarquéjol :*

Le chlorhydrate de codéine est associé à différentes doses de phénocarquéjol. A la dose de 0,050 g/kg (dose employée pour le carquéjol), le phénocarquéjol renforce l'action de la codéine, mais le renforcement est moins net que pour le carquéjol.

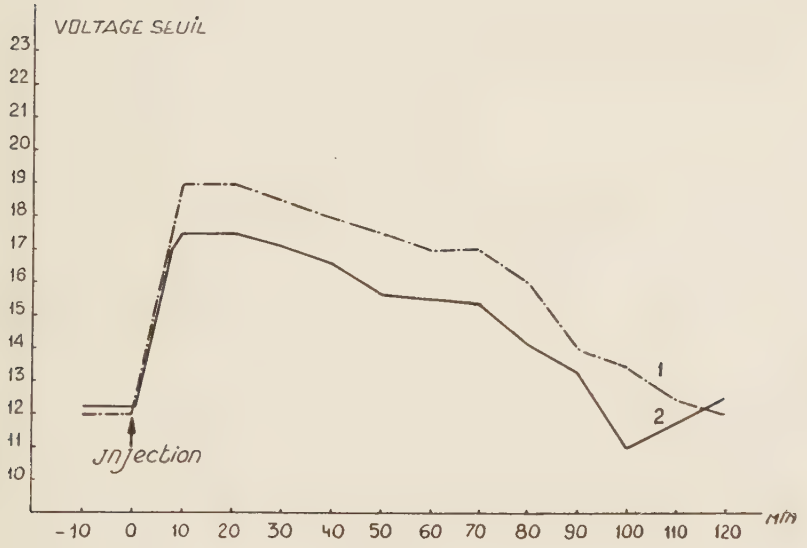
Le tableau suivant donne les résultats obtenus avec 0,050 g/kg et 0,150 g/kg de phénocarquéjol associés à 0,015 g/kg de chlorhydrate de codéine.

Tableau 68

MESURE DE L'ANALGÉSIE

(Epreuve électrique)

Temps en minutes	Chlorhydrate de codéine 0,015 g/kg associé avec :	
	Phénocarquéjol 0,150 g/kg	Phénocarquéjol 0,050 g/kg
	voltage - seuil	
— 10	12,0	12,2
0		
10	19,0	17,5
20	19,0	17,5
30	18,5	17,1
40	18,0	16,6
50	17,5	15,7
60	17,0	15,5
70	17,0	15,4
80	16,0	14,1
90	14,0	12,3
100	13,5	11,0
110	12,5	13,1
120	12,0	12,5



Graphique 24
Mesure de l'analgésie
(Stimulation de la pulpe dentaire du Lapin)

— courbe 1 : Codéine (chlorhydrate) 0,015 g/kg + phénocarquéjol 0,150 g/kg
— courbe 2 : Codéine (chlorhydrate) 0,015 g/kg + phénocarquéjol 0,050 g/kg

β) Procédé quantal :

L'interprétation des résultats par ce procédé fait ressortir l'intense pouvoir synergique ou potentialisateur du carquéjol et du phénocarquéjol : pour la première fois, un pouvoir renforçateur de la codéine par l'acétate de carquéjyle a pu être mis en évidence (tableau 69).

Tableau 69

(Les résultats sont exprimés en mg/kg)

Produits	n	DE 50	Limites de confiance (19/20)
Morphine (chlorhydrate)	24	5,4	3,3 — 6,5
Codéine (chlorhydrate)	18	28,0	20,3 — 37,0
Codéine + 0,015 g/kg : carquéjol	18	430,	30,1 — 51,4
Codéine + 0,015 g/kg : acétate de carquéjyle .	22	150	80,0 — 225
Codéine + 0,015 g/kg : dihydrocarquéjols	—	—	—
Codéine + 0,015 g/kg : phénocarquéjol	18	50,5	37,3 — 64,1

n : Nombre d'animaux.

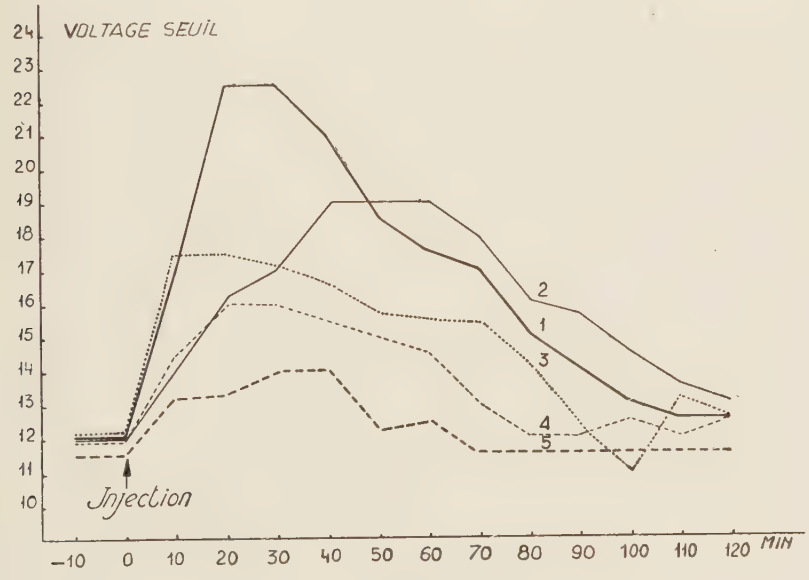
γ) Conclusion :

Nous avons réuni sur un même graphique les courbes d'action analgésique — obtenues par stimulation de la pulpe dentaire du Lapin — du carquéjol et de ses dérivés associés au chlorhydrate de codéine.

Nous comparons les activités analgésiques avec la morphine selon la méthode de Truchaud, comme nous l'avons fait pour l'épreuve thermique. Sur le graphique 25, chaque courbe délimite avec l'abscisse, ou voltage-seuil normal, une surface d'autant plus grande que le pouvoir analgésique est plus élevé. Nous avons planimétré les courbes originales et obtenu ainsi des « aires analgésiques ».

Tableau 70

Produits administrés en g/kg	Aires analgésiques mesurées en millimètres carrés	Aires analgésiques rapportées au chlorhydrate de morphine	
		0,015 g/kg	0,012 mg/kg
Morphine (chlorhydrate) 0,015	8 840	1,00	—
— — 0,012	6 210	—	1,00
Carquéjol 0,050	7 600	0,88	1,22
Acétate de carquéjyle 0,050 + codéine (chlor.) 0,015	3 070	0,34	0,49
Dihydrocarquéjols 0,050	1 500	0,17	0,24
Phénocarquéjol 0,050	5 080	0,57	0,82



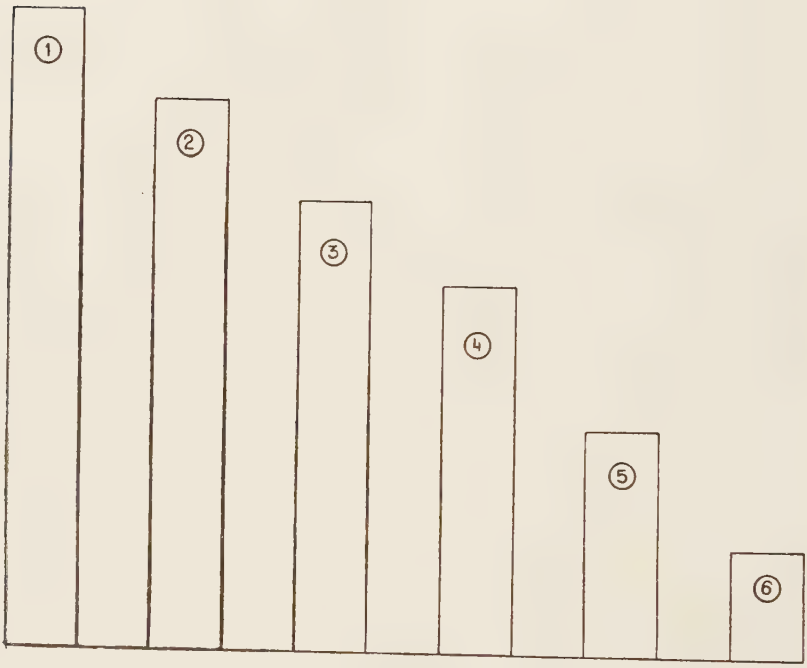
Graphique 25

Pouvoir analgésique comparé
(Stimulation de la pulpe dentaire du Lapin)

- - courbe 1 : Morphine (chlorhydrate) 0,015 g/kg
— courbe 2 : Carquéjol 0,050 g/kg
courbe 3 : Phénocarquéjol 0,050 g/kg
— courbe 4 : Dihydrocarquéjols 0,050 g/kg
- courbe 5 : Acétate de carquéjyle 0,050 g/kg

} + codéine (chlorhydrate) 0.015 g/kg

La stimulation de la pulpe dentaire du Lapin montre que le carquéjol se détache très nettement de ses trois dérivés, et nous pouvons dire que, associé à la codéine, sa puissance est très voisine de celle de la morphine — mais à une dose 3 fois supérieure.



Graphique 26

Puissance analgésique comparée
(Stimulation de la pulpe dentaire du Lapin)

1 : Morphine 0,015 g/kg
2 : Carquéjol 0,050 g/kg + codéine 0,015 g/kg
3 : Morphine 0,012 g/kg
4 : Phénocarquéjol 0,050 g/kg + codéine 0,015 g/kg
5 : Acétate de carquéjyle 0,050 g/kg + codéine 0,015 g/kg
6 : Dihydrocarquéjols 0,050 g/kg + codéine 0,015 g/kg

4° DISCUSSION ET CONCLUSION

L'influence du carquéjol et de ses dérivés sur l'activité analgésique centrale de la codéine dépasse le stade de la synergie renforçatrice banale pour atteindre avec certaines doses, celui de la potentialisation vraie. Cette donnée se trouve fondée sur les résultats de 3 tests ; le faisceau de résultats réunis est probant (tableau 71), du moins pour les animaux choisis au cours de nos essais ; ceux-ci étant des vertébrés supérieurs, il semble bien que nos conclusions présentent un certain intérêt pharmacologique.

D'un point de vue général, l'ensemble de nos essais témoigne de façon particulièrement significative de la nécessité de recourir systématiquement à plusieurs espèces animales dans les épreuves de pharmacodynamie. L'acétate de carquéjyle, inactif chez la Souris, présente une action analgésique faible mais nette chez le Lapin ; pour les dihydrocarquéjols, au contraire, les Lapins se trouvent dans un état narcotique tel, qu'il est pratiquement impossible d'interpréter les résultats obtenus. Ainsi, l'exploration fragmentaire risque d'induire en erreur, si elle est livrée au hasard d'une seule espèce.

Tableau 71

(Les résultats sont exprimés en mg/kg)

	Produits	Valeur de la DE 50		
		Epreuve mécanique	Epreuve thermique	Epreuve électrique
	Morphine (chlorhydrate)	6,9 (5,7 — 8,3)	5,2 (4,3 — 6,2)	5,4 (3,3 — 6,5)
	Codéine (chlorhydrate)	42,5 (24,5 — 73,5)	21,0 (17,5 — 25,2)	28,0 (20,3 — 37,0)
Codéine + (dose inactive) :	Carquéjol	235 (191 — 289)	48,5 (24,2 — 98,0)	40,3 (30,1 — 51,4)
	Acétate de carquéjyle	—	—	150 (80,0 — 225)
	Dihydrocarquéjols	163 (131 — 202)	64,5 (32,3 — 12,9)	
	Phénocarquéjol	224 (188 — 267)	58,5 (40,3 — 84,8)	50,5 (37,3 — 64,1)

C - Influence sur la Thermorégulation

I. — ETUDE DU POUVOIR HYPOTHERMISANT SUR LA SOURIS BLANCHE :

a) Essai du carquéjol.

b) Essai de l'acétate de carquéjyle.

c) Essai des dihydrocarquéjols.

d) Essai du phénocarquéjol.

II. — EFFETS SUR L'HYPERTHERMIE PROVOQUEE CHEZ LE LAPIN :

1° Conditions expérimentales.

2° Résultats.

III. — CONCLUSIONS.

C - Influence sur la Thermorégulation

L'étude de la toxicité du carquéjol et de ses dérivés, a montré que ces corps avaient une action directe sur les centres de la thermorégulation. Cette action a été étudiée systématiquement sur la Souris d'une part, et le Lapin d'autre part ; il a paru intéressant d'étudier également, les effets sur l'hyperthermie provoquée.

La température rectale de l'animal éprouvé est mesurée à l'aide d'une sonde thermoélectrique « Thermorapid » Netheler et Hinz ; nous avons pris soin de faire notre expérimentation dans un local dont la température variait dans de très faibles limites (environ 25 ± 1° C).

I. — ETUDE DU POUVOIR HYPOTHERMISANT SUR LA SOURIS BLANCHE

La discordance des résultats, en ce qui concerne la température centrale de la Souris [1, 5, 37, 39, 75, 79] a incité Caujolle et Meynier [14] à définir les conditions indispensables à une expérimentation valable :

« On peut utiliser la Souris pour l'essai des hypothermisants ou des hyperthermisants à la condition formelle de tenir exactement compte des particularités qu'offre sa thermorégulation. Tous les animaux doivent être testés, isolés, au repos à une température bien définie et toujours la même, comprise entre 25 ± 1° et 30 ± 1°. »

Ces auteurs, expérimentant sur 2 500 Souris, ont montré que la température de ces animaux variait de 37°9 à 38°6.

« ...Toute baisse thermique inférieure en valeur absolue à 1° sera tenue pour non significative. »

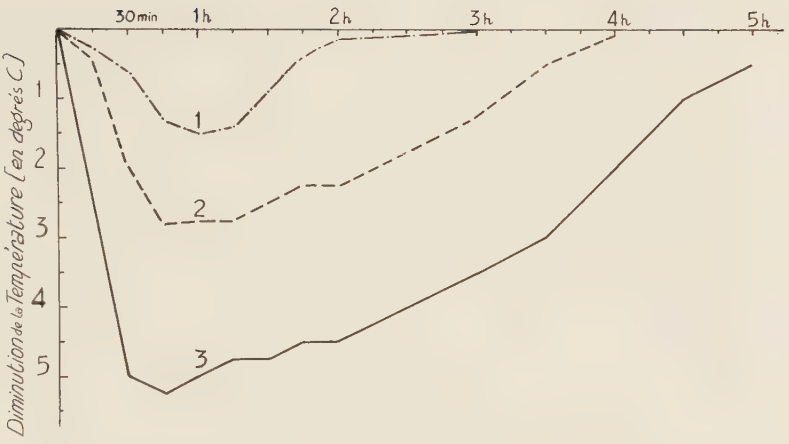
Nous avons opéré dans les conditions précédemment décrites, en utilisant pour chaque dose essayée, des lots de 15 à 20 animaux.

Le carquéjol et ses dérivés sont administrés par la voie intrapéritonéale en solution dans l'huile d'olive neutralisée. La température rectale des animaux est prise au moins deux fois avant l'administration du produit et toutes les 15 minutes pendant les deux premières heures qui suivent l'injection, puis toutes les demi-heures, jusqu'à ce qu'elle retrouve sa valeur initiale.

Parallèlement à ces essais, nous avons traité un lot de 30 Souris avec 0,2 ml d'huile d'olive neutralisée servant à faire les solutions ; nous n'avons observé aucune variation de la température rectale pendant les 5 heures qu'a duré notre expérimentation. De même les écarts de température, d'une série de Souris témoins provenant de la même souche, n'ont pas dépassé ± 0°5 C.

a) Essai du carquéjol :

Le carquéjol administré à des doses inférieures à l'infra-léthale, provoque une chute thermique très importante ; cette hypothermie est encore nette à la dose de 0,050 g/kg (graphique 27). Quelle que soit la dose, cet effet hypothermisant se développe entre 15 et 90 minutes après l'injection. le maximum se situant aux environs de 60 minutes. A la forte dose de 0,350 g/kg (DL 50 = 0,44 g/kg), 4 heures après l'injection. l'hypothermie est encore nette.



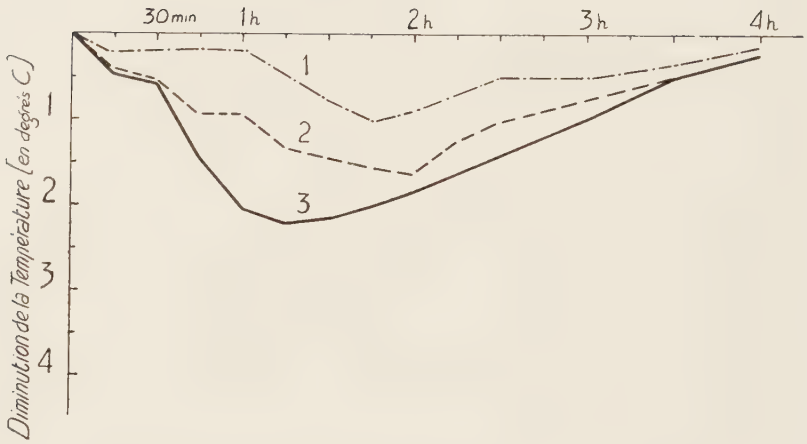
Graphique 27

Effets du carquéjol sur la température centrale de la Souris blanche

— courbe 1 : Carquéjol 0,050 g/kg
— courbe 2 : Carquéjol 0,150 g/kg
— courbe 3 : Carquéjol 0,350 g/kg

b) Essai de l'acétate de carquéjyle :

Les effets hypothermisants de l'acétate de carquéjyle sont réduits comme le montre la figure 28 ; 0,350 g/kg font baisser la température de la Souris de 2° C, 1 heure environ après l'administration ; aux doses inférieures à 0,150 g/kg, l'activité hypothermisante est pratiquement nulle.



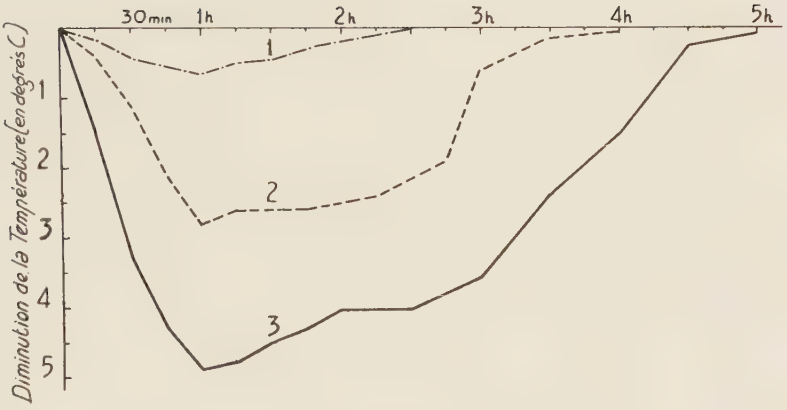
GRAPHIQUE 28

Effets de l'acétate de carquéjyle sur la température centrale de la Souris blanche

— courbe 1 : Acétate de carquéjyle 0,050 g/kg
— courbe 2 : Acétate de carquéjyle 0,150 g/kg
— courbe 3 : Acétate de carquéjyle 0,350 g/kg

c) ESSAI DU MÉLANGE DES DIHYDROCARQUÉJOLS :

Chez la Souris blanche, les dihydrocarquéjols, provoquent également une hypothermie facilement décelable, comme le montrent les résultats présentés dans le graphique 29. L'activité hypothermique est voisine de celle du carquéjol aux doses égales ou supérieures à 0,150 g/kg ; par contre, 0,050 g/kg n'abaissent que de quelques dizièmes de degrés, la température centrale de la Souris.



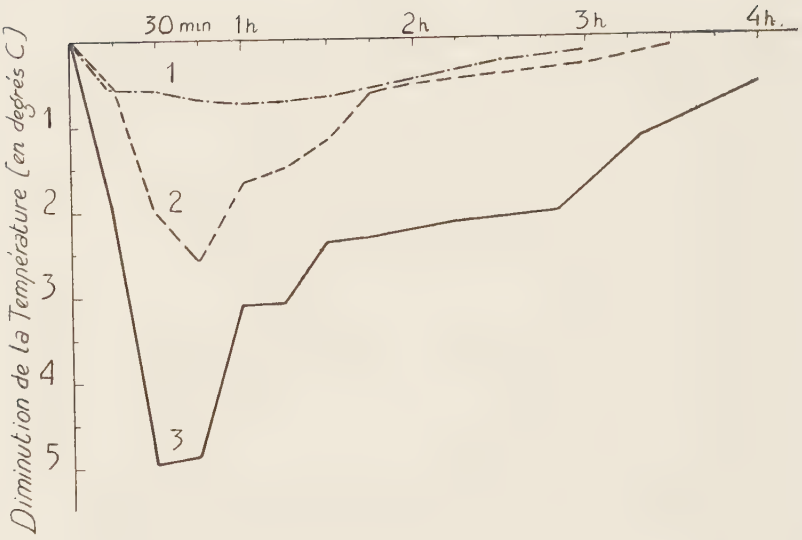
GRAPHIQUE 29

Effets des dihydrocarquéjols sur la température centrale de la Souris blanche

— courbe 1 : Dihydrocarquéjols 0,050 g/kg
— courbe 2 : Dihydrocarquéjols 0,150 g/kg
— courbe 3 : Dihydrocarquéjols 0,350 g/kg

d) ESSAI DU PHÉNOCARQUÉJOL :

Le pouvoir hypothermisant du phénocarquéjol est comparable à celui du carquéjol, cependant, son action est beaucoup plus brève (graphique 30). A la dose de 0,350 g/kg, 6 Souris sur les 20 traitées, présentent une chute thermique moyenne de 7° C de la 50e à la 80e minute consécutive à l'injection ; 0,150 g/kg provoquent une hypothermie à peine marquée.



Graphique 30

Effets du phénocarquéjol sur la température centrale de la Souris blanche

— courbe 1 : Phénocarquéjol 0,050 g/kg
— courbe 2 : Phénocarquéjol 0,150 g/kg
— courbe 3 : Phénocarquéjol 0,350 g/kg

II. — EFFETS SUR L'HYPERTHERMIE PROVOQUEE CHEZ LE LAPIN

1° Conditions expérimentales :

La Souris réagissant très mal aux hyperthermisants, Sivadjan [70], Grafe [34], nous avons choisi comme animal d'expérimentation, le Lapin dont la température rectale est constante, et se situe aux environs de 39° C.

Nous avons étudié l'action antipyrétique de nos produits, vis-à-vis de la fièvre expérimentale provoquée par 100 millions de germes/kg de vaccin antigonococcique (*) ; l'agent

(*) Vaccin antigonococcique de l'Institut Pasteur (Paris).

pyrétogène est administré par voie intraveineuse. Le vaccin antigonococcique est un « hyperthermisant central agissant par choc protidique directement ou indirectement sur le centre de la thermorégulation » (Cheymol [21]). A cette hyperthermie provoquée, nous avons opposé l'hypothermie réalisée par le carquéjol et ses dérivés, suivant deux techniques :

— D'une part, nous injectons simultanément le carquéjol ou un de ses dérivés et le vaccin antigonococcique.

— D'autre part, nous administrons le produit à étudier une heure après l'injection de l'agent hyperthermisant (Levy [48]).

Nous avons mesuré la température rectale d'une série de 10 Lapins témoins : la différence de température n'a pas dépassé ± 0°1 C. Nous avons remarqué qu'il était nécessaire d'injecter aux Lapins des solutions assez concentrées, car l'administration par voie intrapéritonéale d'une quantité d'huile d'olive neutralisée supérieure à 3 ml provoque une légère hyperthermie (+ 0°7 C), se manifestant 3 à 5 heures après l'injection.

2° Résultats :

L'action hyperthermisante du vaccin antigonococcique sur la température rectale du Lapin (essais sur 15 animaux), se manifeste dès l'administration du produit ; l'activité maxima (+ 1°9 C) se situe entre 3 et 4 heures après l'injection intraveineuse (graphique 31).

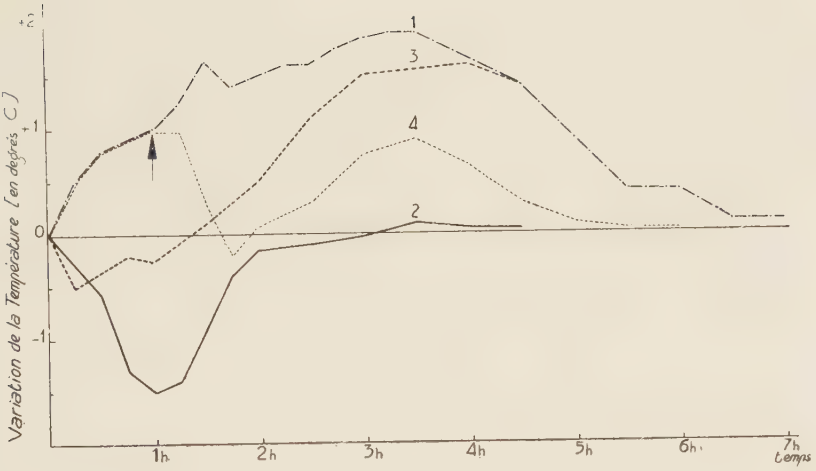
L'hypothermie obtenue chez le Lapin avec le carquéjol et ses dérivés est comparable à celle observée chez la Souris blanche. Chez le Lapin, aux doses non toxiques, seul le carquéjol possède une action hypothermisante, —1°5 C, une heure après l'injection de 0,050 g/kg de carquéjol) ; à ces mêmes doses le phénocarquéjol agit très faiblement (maximum de chute thermique : 0°3 C, 30 minutes après l'injec-

tion). Quant aux dihydrocarquéjols et à l'acétate de carquéjyle, leur action est pratiquement nulle dès la dose de 0,100 g/kg.

Le carquéjol à la dose de 0,050 g/kg provoque une hypothermie chez le Lapin d'une durée de 120 minutes ; la chute thermique atteint son maximum (1°5 C) 60 minutes après l'injection. (La même diminution de température était atteinte, chez la Souris, 40 minutes après l'injection.) La température redevient normale trois heures après l'injection et reste constante jusqu'à la fin de l'expérimentation.

Injecté simultanément avec le vaccin antigonococcique, le carquéjol neutralise l'action hyperthermisante du vaccin pendant la première heure puis, peu à peu, la température remonte et 4 heures après l'injection, la température de l'animal devient identique à celle obtenue par administration du vaccin seul.

Administré une heure après le vaccin hyperthermisant. le carquéjol provoque, 15 minutes après, une chute de la température ; pendant 20 minutes environ, la température redevient presque normale, puis elle remonte lentement sans toutefois atteindre celle provoquée par l'hyperthermisant seul ; la température initiale est retrouvée à la 5^{e} heure.



GRAPHIQUE 31

Température rectale moyenne de 40 Lapins

traités par 0,050 g/kg de carquéjol (voie intrapéritonéale)

et 100 millions de germes/kg de vaccin antigonococcique (voie intraveineuse)

— courbe 1 : Vaccin antigonococcique administré seul

— courbe 2 : Carquéjol administré seul

— courbe 3 : Courbe expérimentale des actions associées des deux produits (injections simultanées)

— courbe 4 : Carquéjol injecté 1 heure après l'administration du vaccin

(↑ injection du carquéjol)

III. — CONCLUSIONS

Le carquéjol, les dihydrocarquéjols et le phénocarquéjol sont des hypothermisants comme le prouvent nos essais sur Souris et Lapins ; toutefois, le carquéjol se différencie de ses deux dérivés par l'intensité de son activité, encore nette aux faibles doses. L'action du carquéjol vis-à-vis de l'action pyrétogène du vaccin antigonococcique est limitée, mais elle n'en demeure pas moins appréciable. Le carquéjol agirait donc dans l'organisme animal quelques minutes après l'injection ; son maximum d'action se situerait chez le Lapin de 40 à 90 minutes et dès la deuxième heure il serait éliminé ou métabolisé : ceci concorde bien avec les observations faites au cours de l'étude du pouvoir sédatif.

D - Pouvoir anticonvulsant

Vis-à-vis du Pentetrazol et de la Strychnine

I. — LE PENTETRAZOL.

II. — LA STRYCHNINE.

D - Pouvoir anticonvulsant

Vis à-vis du Pentetrazol et de la Strychnine

I. — LE PENTETRAZOL

(Pentaméthylènetétrazol)

Administré par voie sous-cutanée, le pentétrazol, à la dose de 0,090 g/kg, provoque chez la Souris, des convulsions caractéristiques qui entraînent la mort.

Le carquéjol et ses dérivés, en solution à 5 % dans d'huile d'olive neutralisée, sont administrés par voie intrapéritonéale, 15 minutes avant l'injection de pentétrazol.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 72 (essais sur 160 animaux).

— Carquéjol, phénocarquéjol et acétate de carquéjyle diminuent très peu le taux de mortalité ($\leqslant$80 %) ; le temps de survie est prolongé jusqu'à 8 heures avec 0,300 g/kg de phénocarquéjol ; pour la plupart des doses, les convulsions sont atténuées, et l'apparition de ces crises, de faible intensité, est retardée.

— Les dihydrocarquéjols nous ont donné des résultats très satisfaisants. Dès la dose de 0,100 g/kg, le pourcentage de mortalité est de 50 % ; à 0,200 g/kg, neuf Souris sur dix ont survécu, la dixième étant morte une heure quarante, après l'injection de pentétrazol ; à 0,250 g/kg, tous les animaux ont récupéré ; après 1 h 50, ils ont eu néanmoins des convulsions atténuées.

Tableau 72

POUVOIR ANTICONVULSIVANT

(Association avec 0,090 g/kg de pentétrazol)

(+ + : crise typique - + : crise atténuée)

Produits (g/kg)	Crises		Temps de survie (min)	Pourcentage de mortalité
	Latence (min)	Intensité		
Pentétrazol :				
0,090	5	+ +	12	100
Carquéjol :				
0,200	10	+ +	20	80
0,250	15	+ +	30	70
0,300	15	+	40	80
0,500	160 à 180	+	240	80
Acétate de carquéjyle :				
0,200	6	+ +	20	80
0,250	3	+ +	20	100
0,300	6	+ +	40	80
Dihydrocarquéjols :				
0,050	5	+ +	15	100
0,100	30	+	60	50
0,150	50	+	120 à 240	20
0,200	60	+	200	10
0,250	110	+	∞	0
Phénocarquéjol :				
0,250	30	+ +	80	90
0,300	120 à 240	+	240 à 360	100

II. — LA STRYCHNINE

Excitant médullaire, stimulant des centres bulbaires, la strychnine aux doses élevées (2 mg/kg et 1,5 mg kg), provoque chez la Souris, des convulsions et des contractures généralisées entraînant la mort par asphyxie en 10 à 15 mn.

Des séries de 10 à 15 animaux sont traitées par le carquéjol ou ses dérivés, par voie intrapéritonéale, à différentes doses ; après 15 minutes on administre la strychnine par voie sous-cutanée.

Pour tous les produits et pour toutes les doses essayées, l'apparition de la première convulsion a été retardée ; celle-ci apparaît moins de 10 minutes après l'injection de strychnine seule, elle est retardée jusqu'à 30 minutes avec l'association dihydrocarquéjols 0,300 g/kg-strychnine 1,5 mg/kg.

Le pourcentage de mortalité est toujours élevé : il s'abaisse jusqu'à 60 % avec les dihydrocarquéjols à 0,300 g/kg.

Le tableau 73 présente les résultats obtenus sur 250 animaux.

Le pouvoir anticonvulsivant et antitoxique des dihydrocarquéjols, qui est très net vis-à-vis du pentétrazol, est très restreint vis-à-vis du sulfate de strychnine.

Tableau 73

POUVOIR ANTICONVULSIVANT

(Association avec le sulfate neutre de strychnine)

Produits (g/kg)	Sulfate de strychnine (mg/kg)	Temps de latence des convulsions (min)	Temps de survie (min)	Pourcentage de mortalité
—	1,5	10	15	100
	2,0	7	10	100
Carquéjol :				
0,250	1,5	23	70	90
0,300	1,5	23	63	90
0,300	2,0	15	50	90
Acétate de carquéjyle :				
0,250	1,5	10	15	100
0,300	1,5	16	20	80
0,300	2,0	11	16	100
Dihydrocarquéjols :				
0,100	1,5	12	20	90
0,200	2,0	9	50	70
0,250	1,5	12	75	80
0,300	1,5	30	110	60
0,300	2,0	13	60 à 600	60
0,400	1,5	10	103	90
0,500	1,5	14	81	90
Phénocarquéjol :				
0,250	1,5	10	70	100
0,300	1,5	16	80	100
0,300	2,0	15	60	80

E - Effets sur le comportement d'animaux agressifs

I. — TECHNIQUE D'ETUDE.

II. — RESULTATS :

a) Carquéjol.

b) Acétate de carquéjyle.

c) Dihydrocarquéjols.

d) Phénocarquéjol.

III. — CONCLUSION.

E - Effet sur le comportement d'animaux agressifs

I. — TECHNIQUE D'ETUDE

D'après G. Siou [68, 69] et Tedeschi [74], cités par G. Raynaud [64], « des Rats mis par paire dans des cages dans le sol desquelles passe un courant électrique, manifestent l'un pour l'autre, un comportement agressif qui se maintient assez longtemps après l'arrêt du passage du courant » (attitude de boxeur).

Nous avons réalisé cette expérience à l'aide d'une cage à compartiment de 20×30 cm de dimensions, à plancher grillagé, alimenté en courant électrique par l'intermédiaire d'un neurostimulateur « Racia », type « GL 260 T ». Selon les sujets traités, un voltage compris entre 60 et 80 V est nécessaire pour provoquer l'attitude dite « de boxeur » ; la durée de la stimulation est de 2 à 3 secondes.

Les Rats mâles provenant d'une même souche, sont testés quelques jours avant l'expérimentation ; la plupart d'entre eux ont pris la position de « boxeur » après deux ou trois stimulations. Ces mêmes animaux ont été traités par nos produits.

Nous avons étudié l'influence sur ce comportement, du carquéjol et de ses dérivés : acétate de carquéjyle, dihydrocarquéjols et phénocarquéjol ; ces produits, mis en solution (10 %) dans l'huile d'olive neutralisée, sont administrés par la voie intrapéritonéale ; toutes les doses essayées sont très inférieures aux doses infraléthales ; toutes les 15 minutes nous étudions l'évolution de l'agressivité des animaux.

II. — RESULTATS

a) Carquéjol :

0,100 g/kg. — A cette dose on n'observe rien d'anormal dans le comportement initial des animaux ; dès le passage du courant, ils s'agitent et prennent la position caractéristique de « boxeur ».

0,150 g/kg. — 15 minutes après l'injection, les animaux réagissent à la stimulation électrique par quelques bonds désordonnés, mais ne prennent pas l'attitude de « boxeur » ; c'est une simple réaction de fuite vis-à-vis du processus d'excitation. Cet état dure pendant 60 minutes environ, puis les Rats réagissent à nouveau en manifestant un comportement agressif ; 90 minutes après l'injection, la réaction des sujets traités est absolument identique à leur réaction initiale avant l'administration de carquéjol.

0,200 g/kg. — Mêmes observations que précédemment mais le retour à l'état initial se fait 120 minutes après l'injection.

b) Acétate de carquéjyle :

Le dérivé acétylé du carquéjol ne protège pas les Rats contre l'attitude de « boxeur ».

c) Dihydrocarquéjols :

0,100 g/kg. — L'action des dihydrocarquéjols est nulle à cette dose ; toutefois, de 30 à 90 minutes après l'injection, la durée du passage du courant doit être plus longue (10 secondes environ) pour provoquer la position des animaux en « boxeur ».

0,150 g/kg. — L'attitude de « boxeur » est inhibée pendant 60 minutes puis réapparaît 90 minutes après l'injection.

0,200 g kg. — L'inhibition se prolonge davantage : 90 à 120 minutes environ.

Nous avons remarqué un certain parallélisme d'action entre le carquéjol et son dérivé dihydrogéné.

d) Phénocarquéjol :

Le produit semble peu actif ; aux doses de 0,100 g kg et 0,150 g kg, il n'y a aucune inhibition de la position agressive des animaux. A la dose de 0,200 g kg, les Rats affaiblis par le phénocarquéjol, esquissent l'attitude en « boxeur » pendant trente minutes, puis ils ne réagissent plus lors du passage de l'excitation électrique ; le retour aux conditions de départ ne se fait que trois heures après l'injection.

III. — CONCLUSION

Administrés à doses faibles, le carquéjol et les dihydrocarquéjols seraient-ils des tranquillisants ? Evidemment, ce seul test effectué sur le Rat ne nous permet pas de répondre positivement, mais il ouvre une voie à des recherches ultérieures.

CONCLUSIONS GENERALES

I. — Dans la première partie de notre travail, nous rappelons l'origine botanique et galénique du carquéjol, de l'acétate de carquéjyle, des dihydrocarquéjols et du phénocarquéjol, qui ont servi à nos recherches. Ces produits naturels, découverts par Y.R. Naves, offrent le premier exemple de structure orthomenthanique rencontré dans la nature.

Les relations chimiques du carquéjol avec les dihydrocarquéjols et l'isopropényl$_2$ méthyl$_3$ phénol (ou phénocarquéjol) ont été précisées.

Carquéjol, acétate de carquéjyle et dihydrocarquéjols ont la plasticité propre aux dérivés terpéniques ; la présence de carbones asymétriques et l'existence d'un cycle insaturé, conditionnant à la fois, des possibilités d'isoméries optiques et d'isoméries cis-trans, suggèrent l'existence d'un grand nombre d'isomères, souvent techniquement inséparables. Aussi avons-nous indiqué les constantes physiques des produits étudiés, provenant tous du carquéjol des essences brésiliennes.

II. — La toxicité des dérivés étudiés, a été déterminée à l'égard de la Souris et du Rat, après administration à la sonde œsophagienne et après injection intrapéritonéale. Les DL 50 ont été calculées suivant la méthode graphique et suivant diverses méthodes mathématiques : Sollman - Behrens et Kærber - Litchfield et Wilcoxon ; les temps de crise, les DL 50 limites et les indices d'agressivité ont été déterminés selon F. Caujolle et D. Meynier. La symptomatologie a été décrite.

L'ensemble des résultats obtenus, rapporté dans les tableaux 3, 10, 16, 22 pour la Souris et 6, 13, 19, 25 pour le Rat, a été soumis à une analyse statistique rigoureuse. Ces

résultats sont en concordance avec ceux déjà publiés [13, 15, 16, 18], aux approximations rendues inévitables par la disparité des souches animales, les variations dans les pourcentages isomériques au sein des substances éprouvées et surtout les différences de concentrations en produits actifs au cours de l'administration (voie entérale en particulier).

Le carquéjol n'est pas tératogène pour la souche de Rats blancs utilisée.

III. — La troisième partie de notre travail est réservée à l'étude des effets pharmacodynamiques du carquéjol et de ses satellites, sur le système nerveux central. Cette étude a été divisée en secteurs distincts, dont chacun nous a conduit à choisir, et parfois à associer, des tests divers, dont la valeur objective a été critiquée.

A) Pouvoir hypnotique. — Pour la Souris, à la seule exception des dihydrocarquéjols, les dérivés étudiés sont dépourvus d'activité hypnotique.

Effets renforçateurs de l'activité des hypnotiques. — L'association du groupe du carquéjol a été réalisée avec un barbiturique (l'hexobarbital sodique), l'éther officinal et la paraldéhyde.

Des conditions expérimentales distinctes (hypnotique administré à dose efficace liminaire, hypnotique administré à dose infraliminaire, réinduction du sommeil) ont conduit à des résultats exploités au moyen du test de Tukey et de l'analyse de variance de Fischer-Snedecor. Nous sommes fondés à conclure qu'en dehors de l'acétate de carquéjyle, les dérivés étudiés, et en particulier, les dihydrocarquéjols, sont des renforçateurs puissants de l'activité des hypnotiques; ainsi pour la Souris, les dihydrocarquéjols multiplient par 13 à 25, la puissance hypnotique des doses liminaires d'hexobarbital sodique et de paraldéhyde.

B) Pouvoir analgésique central. — Le choix des méthodes d'expérimentation a fait l'objet d'un examen criti-

que minutieux. Les tests douloureux adoptés sont : l'épreuve mécanique de Haffner, suivant le protocole de Bianchi et Franceschini ; l'épreuve thermique de Woolfe et Mac Donald, avec ses 2 variantes : à température constante et à température progressive ; l'épreuve électrique, suivant la technique de Cheymol, sur l'incisive de Lapin.

Les résultats ont été analysés par le procédé quantal (basé sur le recours à la DE 50 de Litchfield et Wilcoxon) et par le procédé proportionnel. Les aires analgésiques de Truchaut ont été mesurées, lorsque la technique le permettait, au moyen d'un planimètre polaire compensateur de Ott.

Les analgésiques de référence utilisés, sont la morphine et la codéine (sous forme de chlorhydrate).

L'ensemble de nos résultats témoigne du notable pouvoir analgésique central propre au carquéjol et aux dihydrocarquéjols ; si l'acétate de carquéjyle est inactif ou très peu actif, le phénocarquéjol présente, généralement, un pouvoir analgésique net, mais le plus souvent inférieur à celui du carquéjol et des dihydrocarquéjols.

Renforcement du pouvoir analgésique central du chlorhydrate de codéine. — Le fait d'avoir observé dans la série du carquéjol, l'existence d'une activité analgésique centrale, pouvant être considérée comme relevant spécifiquement de la structure, nous a conduit à associer le carquéjol et ses satellites, à une substance, la codéine, possédant elle-même un pouvoir analgésique central, net, mais faible.

Suivant les techniques déjà précisées, nous avons étendu et confirmé les résultats indiqués par F. Caujolle et D. Meynier : si l'acétate de carquéjyle est peu ou pas actif, le carquéjol, les dihydrocarquéjols et le phénocarquéjol agissent en synergie fortement renforçatrice avec la codéine : on a pu, dans certaines zones de concentration, réaliser de véritables potentialisations, les associations carquéjol-codéine pouvant,

à des doses non toxiques. produire des analgésies supérieures à celles permises avec la morphine elle-même.

C) Effets sur la thermorégulation. — Les dérivés étudiés, et plus particulièrement le carquéjol, sont hypothermisants pour la Souris et le Lapin. Cette activité hypothermisante est prompte à se manifester ; elle s'exerce avec beaucoup de netteté sur le Lapin en état d'hyperthermie provoquée.

D) Pouvoir anticonvulsivant. — Seuls les dihydrocarquéjols témoignent d'un pouvoir anticonvulsivant important, en particulier à l'égard du pentétrazol.

E) Activité ataraxique. — Sur le Rat blanc, rendu agressif par excitation électrique, le carquéjol et les dihydrocarquéjols présentent une légère activité tranquillisante.

Vu : *Le Président*,

CAUJOLLE.

Vu : *Le Doyen*,

LAZORTHES.

Vu et permis d'imprimer :

Toulouse, le 28 mai 1963.

Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université,

DOTTIN.

BIBLIOGRAPHIE

1. Barbour (H.G.) a. Trace (J.). — (*Amer. J. Physiol.*, 1937, *118*, 77.)

2. Barnes (J.M.) a. Denz (F.A.). — Experimental methods used in determining chronic toxicity. (*Pharmacol. rev.*, 1956, *6*, 191.)

3. Beecher (H.K.). — The measurement of pain. Prototype for the quantitative study of subjective responses. (*Pharmacol. rev.*, 1957, *59*, 209.)

4. Behrens (B.) u. Kærber (G.). — Wie sind Reihersversuche für biologische Auswertungen am zweckmæssigsten anzuordnen ? (*Arch. exper. Path. u. Pharmakol.*, 1935, *177*, 379.)

5. Benedict (F.G.) a. Lee (R.C.). — (*Ann. Physiol.*, 1936, *12*, 938.)

6. Benson (W.M.), Stefko (P.L.) a. Randall (L.O.). — Comparation pharmacology of levorphan, racemorphan and dextrorphan and related methyl ethers. (*J. pharmacol. exp. Ther.*, 1953, *109*, 189.)

7. Bianchi (C.) a. Franceschini (J.). — Experimental observations on Haffner's method for testing analgesic drugs. (*Brit. J. Pharmacol.*, 1954, *9*, 280.)

8. Bliss (C.I.). — (*Quart. J. Pharm. and Pharmacol.*, 1938, *11*, 192.)

9. Boissier (J.R.). — L'apport de la pharmacologie expérimentale à l'étude des neuroleptiques et des tranquillisants. (*Actual. pharmacol.*, 1959, *12*, 1.)

10. Boissier (J.R.), Mouille (P.) et Simon (P.). — Action pharmacologique d'un nouveau neuroleptique phénothiazinique : la thioridazine (T P 21). (*Thérapie*, 1959, *14*, 793.)

11. Cahen (R.). — Détermination de la toxicité des médicaments nouveaux. (*Semaine des Hôpitaux*, 1957, *33*, 1.)

12. Caujolle (F.) et Meynier (D.). — L'indice d'agressivité (DL 50 limite). (*Bull. Acad. Méd.*, 1957, *17*, 362.)

13. Caujolle (F.) et Meynier (D.). — Effets pharmacodynamiques du carquéjol. (*C. R. Acad. Sci.*, 1959, *249*, 585.)

14. Caujolle (F.) et Meynier (D.). — Activité hypothermisante dans les séries de l'eugénol et du safrole. (*Ann. pharm. fr.*, 1960, *18*, 601.)

15. Caujolle (F.), Meynier (D.) et Pham-Huu-Chanh. — Toxicité du carquéjol. (*Ann. pharm. fr.*, 1960, *18*, 715 ; 1960, *18*, 920.)

16. Caujolle (F.), Meynier (D.) et Cros (J.). — Etude pharmacologique sur le carquéjol et ses dérivés. (*Thérapie*, 1960, *15*, 931.)

17. Caujolle (F.), Meynier (D.) et Cros (J.). — Recherches pharmacodynamiques sur le carquéjol et l'acétate de carquéjyle. (*Congrès de l'A.F.A.S.*, Grenoble, juillet 1960.)

18. Caujolle (F.), Caujolle (D.) et Cros (J.). — Toxicité de l'isopropényl-$_2$ méthyl-$_3$ phénol. (*C. R. Acad. Sci.*, 1963, *256*, 315.)

19. Chassagne (P.) et Lechat (P.). — A propos de l'effet tératogène des médicaments. (*Thérapie*, 1962, *17*, 743.)

20. Chen (J.Y.P.) a. Beckman (H.). — A satisfactory apparatus for study of analgesia in mice. (*Science*, 1951, *113*, 631.)

21. Cheymol (J.) et Levassort (C.). — Actions comparées de l'hypoxie et de la chlorpromazine sur différents types d'hyperthermies. (*Ann. pharm. fr.*, 1955, *13*, 527.)

22. Cheymol (J.), Gay (Y.) et Duteil (J.). — Des différents tests proposés pour l'étude d'un analgésique. (*Thérapie*, 1959, *14*, 20.).

23. Cheymol (J.), Montagne (R.), Paeile (C.), Dalion (J.) et Duteil (J.). — Contribution au test de la stimulation électrique de la dent du lapin pour l'étude expérimentale des analgésiques. (*Thérapie*, 1959, *14*, 350.)

24. Cheymol (J.), Boissier (J.R.) et Lechat (P.). — Principes de l'étude de la toxicité d'un médicament nouveau. (*Thérapie*, 1961, *16*, 326).

25. Cordier (G.J.), Lespagnol (A.) et Mercier (F.). — Pouvoir analgésique d'un dérivé de la diphénylélhylamine. (*Presse Méd.*, 1950, *58*, 1502.)

26. Eddy (N.B.), Touchberry (C.F.) a. Lieberman (J.E.). — Synthetic analgesics. I-Methadone isomers and derivates. (*J. pharmacol. exp. Ther.*, 1950, *98*, 121.)

27. Eddy (N.B.) a. Leinbach (D.). — Synthetic analgesics. II-Dithienylbutenyl and dithienylbutylamines. (*J. pharmacol. exp. Ther.*, 1953, *107*, 385.)

28. Fischer (R.A.). — Statistical Methods for Research Workers. (11th ed., *Iowa State Univ. Press*, Iowa, 1961.)

29. Fleisch (A.L.) u. Dolivo (M.). — Auswertung der Analgetica im Tierversuch. (*Helvet. physiol. et pharmacol. Acta*, 1953, *11*, 305.)

30. Friebel (H.) u. Reichle (C.). — Versuchstierart und Testergebnis bei Prüfung schmerz- und hustenstillender Arzneimittel. (*Arch. exper. Path. u. Pharmakol.*, 1956, *229*, 400.)

31. Gaddum (J.H.). — (*Med. Res. Council Spec. Report*, 1933, *183.*)

32. Gaddum (J.H.). — Bioessays and mathematics. (*Pharmacol. rev.*, 1953, *5*, 87.)

33. Giroud (A.), Tuchmann-Duplessis (M.) et Mercier-Parot (L.). — Observations sur les répercussions tératogènes de la thalidomide chez la souris et le lapin. (*C. R. Soc. Biol.*, 1962, *156*, 765.)

34. Grafe (E.). — Die pathologische Physiologie der gesamtstoff- und Kraftwechsels bei der Ernæhrung der Menschen. (*Ergeb. Physiol.*, 1923, *21*, 364).

35. Haffner (F.). — Experimentelle Prüfung schmerzstillender Mittel. (*Dtsch. med. Wschr.*, 1929, *55*, 731.)

36. Herr (F.), Tardos (L.) u. Porszasz (J.). — Messung der analgetischen Wirkung. II - Spezifizitæt der Methode ; Lokalisation der Schmerzreaction bedeutenden Bewegung im Zentralnervensystem. (*Acta physiol. hung.*, 1953, *4*, 123.)

37. Herrington (L.P.). — (*Amer. J. Physiol.*, 1940, *129*, 123.)

38. Hertle (F.), Schanne (O.) u. Staib (I.). — Zur Methodik Prüfung der Analgesie am Kaninchen. (*Arzneimittel-Forschg.*, 1957, *7*, 311.)

39. Heubner (W.) u. Silber (W.). — (*Arch. exper. Path. a Pharmakol.*, 1932, *169*, 530.)

40. Izard (G.). — Contribution à l'étude du pouvoir analgésique du borate et du phénylborate de codéine. (*Thèse Pharmacie*, Toulouse, 1954.)

41. Jackson (H.). — The evaluation of analgesic potency of drugs using thermal stimulation in the rat. (*Brit. J. Pharmacol.*, 1952, *7*, 196.)

42. Jacob (J.) et Szerb (J.). — Sur les propriétés thermoalgiques de la cortisone et de l'adrénocorticotrophine et les modifications de la réactivité à la douleur causées par le bichlorhydrate d'histamine, le refroidissement et le formol. (*Arch. int. pharmacodyn.*, 1952, *90*, 301.)

43. Jacob (J.). — L'action analgésique de la morphine, sa détermination expérimentale et son analyse pharmacologique. (*Art. pharmacol.*, 1954, *7*, 127.)

44. Jacob (J.) et Blozovski (M.). — Action de divers analgésiques sur le comportement de souris exposées à un stimulus thermoalgique. I - Techniques de sélection et de caractérisation. (*Arch. int. pharmacodyn.*, 1959, *122*, 287.)

45. Jacob (J.) et Blozovski (M.). — Action de divers analgésiques sur le comportement de souris exposées à un stimulus thermoalgique. II - Apprentissage nociceptif d'urgence. Actions différentielles de substances analgésiques et psychoactives sur les réactions de lèchement et de bond. (*Arch. int. pharmacodyn.*, 1961, *133*, 296.)

46. Laffargue (B.). — Importance de certains paramètres électriques dans la stimulation de la pulpe dentaire du Lapin. Applications aux antipyrétiques-analgésiques. (*Ann. pharm. fr.*, 1963, *21*, 47.)

47. Lespagnol (A.), Mercier (F.), Bertrand (J.) et Mercier (J.). — Recherches dans la série des analgésiques. (*Ann. pharm. fr.*, 1950, *8*, 241.)

48. Lévy (J.). — Essais et dosages biologiques des substances médicamenteuses. (*Masson* Edit., Paris, 1930.)

49. Litchfield (B.) a. Wilcoxon (J.R. and F.). — A simplified method of evaluating Dose-effect experiments. (*J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1949, *96*, 99.)

50. Lison (L.). — Statistique appliquée à la biologie expérimentale. La planification de l'expérience et l'analyse des résultats. (*Gauthier-Villars*, Edit., Paris, 1958.)

51. Miller (L.C.). — A critique of analgesic testing methods. (*Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1948, *51*, 34.)

52. Montagne (R.). — Contribution à l'étude des analgésiques. (*Thèse Médecine*, Paris, 1957.)

53. Naves (Y.R.). — Présence de dérivés de l'ortho-menthane dans l'huile essentielle de carquéja. (*C. R. Acad. Sci.*, 1959, *249*, 562.)

54. Naves (Y.R.). — Etudes sur les matières végétales volatiles. CLIX. Sur l'huile essentielle de carquéja de l'Etat de Santa Catarina (Brésil). (*Bull. Soc. Chim.*, 1959, 1871.)

55. Naves (Y.R.). — Etudes sur les matières végétales volatiles. CLXIV. Synthèses de l'iso-tétrahydro-carquéjone (ortho-menthène-1 one-3). (*Bull. Soc. Chim.*, 1959, 1940.)

56. Naves (Y.R.). — Etudes sur les matières végétales volatiles. CLXI. Présence de lédol dans l'huile essentielle de carquéja. (*Helv. chim. Acta*, 1959, *42*, 1996.)

57. Naves (Y.R.). — Progrès récents dans la chimie des huiles essentielles. (*Bull. Soc. Chim.*, 1960, 1517.)

58. O'Dell (T.B.), Wilson (L.R.), Napol (M.D.), White (H.D.) a. Mirsky (J.H.). — Pharmacology of a serie of new 2-substitued pyridine derivatives with emphasis on their analgesic and interneuronal blocking properties. (*J. pharmacol. exp. Ther.*, 1960, *128*, 65.)

59. O'Dell (T.). — Experimental parameters in the evaluation of analgesics. (*Arch. int. pharmacodyn.*, 1961, *84*, 154.)

60. Ohlsson (L.). — Analgesimetric Studies by the Hot Plate Method in Mice. (*Acta pharmacol. et toxicol.*, 1953, *9*, 322.)

61. Paeile (C.), Guerrero (S.) et Mardones (J.). — Relation dose-effet de la morphine étudiée par la méthode algimétrique de stimulation de la pulpe dentaire du Lapin. (*Thérapie*, 1962, *17*, 113.)

62. *Pharmacopea Gallica* (Codex), 1949.

63. Porszasz (J.), Knoll (J.) u. Komlos (E.). — Wirkung der Parasympathomimetica auf die Analgesie. (*Acta physiol. hung.*, 1951, *2*, 469.)

64. Raynaud (G.). — Les méthodes d'études des substances tranquillisantes. (*Prod. pharm.*, 1961, *16*, 99.)

65. Régnier (J.), Lambin (S.) et Szolloesi (E.). — De la détermination de la toxicité des substances médicamenteuses. (*Bull. Sci. Pharmacol.*, 1937, *81*.)

66. Ruckstuhl (K.). — Beitrag zur pharmacodynamischen Prüfung der Analgetica (*Thèse Médecine, Berne*, 1939.)

67. Schaumann (O.). — Morphin und morphinæhnlich Wirkende Verbindungen. (*Hand. Exp. Pharmakol.*, 1957, *XII*.)

68. Siou (G.). — Introduction chez le Rat d'un état d'agressivité utilisable pour l'étude de drogues « tranquillisantes ». (*J. Physiol.*, 1958, *50*, 504.)

69. Siou (G.) et Brunaud (M.). — Etude chez le Rat de quelques substances dites « tranquillisantes », à l'aide d'un test d'agressivité. (*J. Physiol.*, 1958, *50*, 507.)

70. Sivadjan (J.). — Contribution à l'étude des médicaments antithermiques. (*Thèse Sciences*, Paris, 1935, n° 489.)

71. Snedecor (G.W.). — Statistical Methods. (5th ed., *Iowa State Univ. Press.*, Iowa, 1961.)

72. Sollman (T.). — Comparative toxicity of local anesthesics and of antipyretics for Earthworms. (*J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1920, *14*, 319.)

73. Somers (G.F.). — (*Lancet*, 1962, *1*, 912.)

74. Tedeschi (R.E.), Tedeschi (D.H.), Mucha (A.), Cook (L.), Mattis (P.A.) a. Fellows (E.J.). — Effects of various centrolly acting drugs on fighting behaviour of mice. (*J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1959, *125*, 28.)

75. Ther (L.). — Pharmakologische Methoden. (*Wissensch. Verlag.*, Stuttgart, 1949.)

76. Trevan (J.W.). — The error of determination of toxicity. (*Proc. Roy. Soc. Br.*, 1927, *101*, 433.)

77. Truchaud (M.). — Contribution expérimentale à l'étude de la médication prolongée ; application aux pectinates dans le domaine de l'analgésie et de la curarisation. (*Thèse Pharmacie*, Strasbourg, 1954, n° 657.)

78. Truchaud (M.). — Que faut-il entendre par « puissance analgésique » ? (*Anesth. Analg.*, 1959, *16*, 103.)

79. Usinger (W.). — Respiratorischer Stoffwechsel und Kœrpertemperatur der Weissen Maus in thermoindifferenter Umgebung. (*Plügers Archiv. ges. Physiol.*, 1957, *264*, 520.)

80. Walpole (A.L.) a. Sinks (A.). — A symposium on the evaluation of drug toxicity. (*J. A. Churchill*, Edit., London, 1958.)

81. Wilhemi (G.). — Ueber die pharmakologischen Eigenschaften von Irgapyrin, einen neuen Præparat aus der Pyrazolreihe. (*Schweiz. med. Wschr.*, 1949, 577.)

82. Woolfe (G.) a. Mac Donald (A.D.). — The evaluation of the analgesic action of pethidine-hydrochloride (Demerol). (*J. Pharmacol. exp. Ther.*, 1944, *80*, 300.)

83. Yim iG.K.W.), Keasling (H.H.), Gross (E.G.) a. Mitchell (C.W.). Stimultaneous respiratory minute volume and tooth pulp threshold changes following levorphan, morphine and levorphan-levallorphan mixtures in rabbit. (*J. Pharmacol. exp. Ther.* 1955, *115*, 96.)

QUESTION POSEE PAR LA FACULTE :

La toux et les antitussifs :

Physiologie et pharmacologie.

TABLE DES MATIÈRES

PREMIÈRE PARTIE :

Etude chimique 13

DEUXIÈME PARTIE :

Etude de la Toxicité 27

a) Techniques d'études 31
b) Essais 39
c) Discussion 66
d) Conclusions 69

TROISIÈME PARTIE :

Etude pharmacodynamique 73

Effets sur le système nerveux central :

a) Pouvoir hypnotique 77
b) Pouvoir analgésique central 101
c) Influence sur la thermorégulation ... 163
d) Pouvoir anticonvulsivant 175
e) Effets sur le comportement d'animaux agressifs 181

CONCLUSIONS GÉNÉRALES 187

BIBLIOGRAPHIE 191